生命科学名著





进化保护遗传学

Evolutionary Conservation Genetics

〔瑞典〕雅各布·霍格伦 著

王标 刘阳 译



科学出版社

(Q-4060.31)

（封面照片摄影：黄秦）

封面照片

中华凤头燕鸥（*Thalasseus bernsteini*），原名黑嘴端凤头燕鸥，是一种鸥科的珍稀鸟类，繁殖于我国东部浙江、福建及台湾马祖列岛之间海域的个别岛屿上，越冬地在印度尼西亚、马来西亚、菲律宾、泰国等周边的南中国海。国际自然保育联盟（IUCN）将中华凤头燕鸥列为极危物种，估计全球野外种群的数量在100只左右。浙江自然博物馆、中山大学、中国科学院动物研究所的鸟类学家开展保护遗传学项目，研究不同繁殖地中华凤头燕鸥的遗传多样性和群体遗传结构。







生物分社
联系电话：010-64012501
E-mail：lifescience@mail.sciencep.com


科学出版社互联网入口


赛拉艾美


本书更多信息请扫码

生命因你而精彩！

www.sciencep.com



ISBN 978-7-03-054425-4

销售分类建议：遗传学

定价：98.00元

Evolutionary Conservation Genetics

进化保护遗传学

〔瑞典〕雅各布·霍格伦　著

王　标　刘　阳　译

科　学　出　版　社

北　京

图字：01-2017-5856 号

内 容 简 介

进化保护遗传学是保护生物学的一个分支，是综合保护生物学、进化生物学和群体遗传学的理论为基础，为解决物种濒危机制研究、物种遗传多样性保护和恢复等实际问题提供了依据和工具。本书概述了进化保护遗传学的基本概念、并结合大量的实际研究案例介绍了该领域必备的计算和分析方法、关键实验技术和常用分析软件，列出了本领域重要的名词解释、参考文献和其他阅读材料。

本书的原著者是瑞典乌普萨拉大学进化生物学研究中心的 Jacob Höglund 教授编著。他是一位享誉国际的保护遗传学家。

本书的内容简明扼要、篇幅适当，可以作为生命科学和生态学领域高年级本科生、研究生的教材，也可供林业、动植物保护和环境科学领域的师生和科研人员学习参考。

图书在版编目（CIP）数据

进化保护遗传学/（瑞典）雅各布 • 霍格伦（Jacob Höglund）著；王标，刘阳译. —北京：科学出版社, 2018. 1

（生命科学名著）

书名原文：Evolutionary Conservation Genetics

ISBN 978-7-03-054425-4

Ⅰ. ①进… Ⅱ. ①雅… ②王… ③刘… Ⅲ. ①生物–进化–遗传学 Ⅳ. ①Q349

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2017)第 221819 号

责任编辑：王 静 李 迪 / 责任校对：郑金红
责任印制：张 伟 / 封面设计：刘新新

科 学 出 版 社 出版
北京东黄城根北街 16 号
邮政编码：100717
http://www.sciencep.com

北京京华虎彩印刷有限公司 印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2018 年 1 月第 一 版 开本：720×1000 B5
2018 年 1 月第一次印刷 印张：10 3/4
字数：217 000

定价：98.00 元

(如有印装质量问题，我社负责调换)

Preface

When I was asked a couple of years ago by my former students Biao Wang and Yang Liu whether it would be possible to translate my 2009 book *Evolutionary Conservation Genetics* to Chinese, I was both immensely proud but also humbled. Proud because these two excellent students would take on the task and go through the troubles of getting my text translated. Translation is not an easy task and it is time consuming. Young scientists like Biao and Yang live busy lives. They have to work hard to earn their place in science and time is a limited resource. They thus both had to trade-off translating my book with other tasks. I am very grateful that they chose to devote time and effort to the translation. I am also humbled that my text will become accessible to a large number of people. Science is a multicultural task and should be accessible to as many as possible. China is changing and more and more people learn and communicate in English but I know from my own experience how difficult it can be to understand a foreign text and my first language, Swedish, is not that different from English. It must be a lot more difficult for someone from China. Written Chinese have the advantage of being understandable by many people with diverse native languages. Thus my text will become accessible to a vast number of people who would not otherwise having been able to access it. This is important because conservation biology is a very important subject, arguably one of the most important facing modern man, and understanding the basis of conservation genetic principles is mandatory not only to academic students of the subject but to policy makers and managers involved in direct conservation. I am deeply indebted to Biao and Yang for making this possible.

Jacob Höglund
Uppsala, Sweden, February, 2017

序

几年前，我在瑞典乌普萨拉大学指导过的学生王标博士和刘阳博士问我是否可以把我在2009年主编的《进化保护遗传学》一书翻译成中文，让更广泛的中国读者去阅读。我觉得这个想法很好，同时也感到非常的自豪和欣慰。自豪是因为我的著作可以由我的这两个优秀的学生来承担翻译，他们无论从专业水平还是语言上都是最能胜任这项任务的。翻译科学著作不是一项容易的事情，十分耗时费力。像王标博士和刘阳博士这样的青年科学工作者平时的工作非常繁忙 ，时间资源非常有限。为此，他们不得不挤出宝贵的时间翻译我的著作。我非常感谢他们花时间和精力去翻译这本教材。我也为我的书籍将可能被更多的读者接触而感到欣慰。科学研究是一个多元文化背景下的事业，人类的科研成果应该尽可能的被更加广泛的人群所了解和关注。在过去的10年里，中国正在发生着巨大变化，越来越多的人学习和使用英语进行交流。但从自身经验中我知道掌握一门外语是十分困难的，而且我的母语——瑞典语，与英语差别是很小的。这对于一个中国人来说，将更加困难。因此，本书的中文版能够出版，将面对更多的中文读者，使他们有机会从本书的内容中获益。保护生物学是一个非常重要的学科，可以说是现代人所面临的最重要科学议题之一。理解保护遗传学的原理和方法等基础知识，不仅是高等学校生态学专业学生的要求，更是参与直接保护工作的决策者和管理者的需求，这是我撰写本书的初衷。为此，我再次感谢王标博士和刘阳博士将我的愿望变成了现实。

雅各布·霍格伦
2017年2月于瑞典乌普萨拉

前言和致谢

为本书拟定书名是非常困难的。在书稿筹备期间，暂定的书名为《遗传变异与灭绝》，这个暂定名维持了很久。然而，这个书名意味着遗传变异和灭绝之间存在一个简单的因果关系。我认为，尽管遗传变异的研究对于保护生物学是极其重要的，但是在我阅读文献的过程中，逐渐认识到两者不是原以为的简单而直接的关系。继而我又考虑过两个新的备选书名：《进化保护生物学》和《保护生物学与进化》。其中，第一个书名已被 Ferriere 等（2004）编辑的著作使用，所以本书没法采用了；第二个书名也可以排除掉了，因为这本书是关于保护遗传学的，题目的第一部分不错，但是第二部分使用“进化”这个词使我不得不更多地强调地球生命的历史和遗传多样性是如何在地球上形成的，而这不是这本书的主题，所以我更愿意使用“有关进化的”这个词，意味着在更广泛的意义上使用进化论和进化的思想去开展保护生物学，这是本书很重要的一部分。在写作最后阶段的某个早晨，我醒来后决定把书名定为《保护和进化生物学》。然而，保护生物学的范畴超过了它在书中的范围。接下来我尝试加强保护生物学中进化遗传方面的内容，而不是去回顾一些相关的话题，如栖息地管理、恢复项目和社会经济方面的保护等。最终，书名定为《进化保护遗传学》。

我要感谢在我写作本书时帮助过我的许多人：感谢我在乌普萨拉大学进化生物学中心的同事们，他们为本书的内容提供了富有建设性、批判性的建议；Dianna Steiner 协助组建参考文献列表，用在我看来“很神秘的”软件来处理和编排参考文献，她还编写了其中的景观遗传学的总结；Hans Höglund 协助准备所有的合适数字格式的图片，也帮助处理参考文献；Ian Sherman、Helen Eaton 和其他剑桥大学出版社的员工在写作的各个阶段提供了极大的支持和理解；我的同事 Martin Lascoux、Ulf Lagercrantz、Mikael Lönn、Tanja Strand、Björn Rogell、Robert Ekblom、Stefan Palm、Martin Carlsson 和 Scott Edwards（我事先并不知道他也参与了外审）阅读了本书部分内容并提出了修改建议；特别要感谢我的好友和合作者 Gernot Segelbacher 教授，他不仅阅读和评论了本书的全部内容，而且在书稿即将付梓而我最为忙碌的 2008 年 6 月，给予了最有效的帮助。最后感谢我家人对我的爱与事业上的支持。

Jacob Höglund
2008 年 6 月

目　录

1 灭绝漩涡模型：遗传变异是否与物种灭绝相关？

1.1 引　　言

物种灭绝是一个事实。自从生命体开始在我们的地球上演化，各种生命形式便一直在发生着改变。新的物种在不断涌现（种化过程），也有物种在灭绝（Raup 1992）。物种形成—新物种诞生—灭绝—物种消亡，是进化过程中的自然事件，以个体生死的方式影响着物种的群体演化历史。回看整个地球的生命演化史，生物多样性整体上在增加，生命的形式越来越复杂。然而，在地球的演化历史上发生了五次物种大灭绝事件。所谓的五次物种大灭绝，是指物种在一定时间内灭绝速度大幅提升，并在数量上超过新物种形成时期的水平（Raup 1994）。但确定的是，一些大灭绝的强度与大型天体对地球地表和气候的影响一致，尽管有些研究者认为这是一个包含着许多因素的更复杂的情况（Erwin 2006）。今天，我们正在亲历第六次大灭绝事件，这次灭绝与天体运动无关。毋庸置疑，本次灭绝是由栖居于地球的一个物种的活动引起——这就是现代人类。我认为，任何其他科学的工作都不如尝试去探索当代大灭绝的原因及结果重要。因此，本书的重点就是去探讨若干年前提出的物种灭绝与物种遗传变异之间存在的关系。

遗传变异是一个群体持续生存的关键（Soulé 1980，1986，1987；Frankel and Soulé 1981；Gilpin and Soulé 1986）。这里有两个原因：在短期内，近亲繁殖（inbreeding）和遗传漂变（genetic drift）会降低个体适合度（fitness）并增加群体灭绝的风险；从长远来看，缺失遗传变异的群体不能演化，因为没有遗传变异，演化不会延续。在全球环境快速变化的大背景下，任何不能适应变化的群体都将会灭绝。

最初上述学术观点被追捧，之后许多质疑也相继被提出。1988 年，Russell Lande 写了一篇有影响力的论文（Lande 1988），就群体人口统计（demography）与遗传对濒危物种灭绝的影响这一问题存在的争议进行了讨论："理论与实证案例表明，在确定野生群体的最小存活群体大小时，群体人口统计通常比群体遗传更直接有效。在保护生物学中，理解群体结构和遗传因素的相互作用，即理解其在物种保护中的实际含义，可能会促进生态学和演化生物学交叉领域的根本进步。"因此，他认为群体人口统计学比群体遗传学在解释群体灭绝原因方面更重要，不过它们之间的相互作用应该可以作为一个研究的新焦点。然而，这篇论文经常被误读并被引用来反对群体遗传学在保护生物学中的应用（例如，Pimm 1991；Young 1991；Wilson 1992；

Caro and Laurenson 1994；Caughley 1994；Holsinger et al. 1999；Elgar and Clode 2001）。最近，一个更为折中的观点出现了，认为遗传因素和群体结构因素在濒危群体及物种的研究中都很重要（Soulé and Mills 1998；Hedrick 2001；Oostermeijer et al. 2003）。本章就是对遗传研究和揭示遗传多样性及群体维持相互关系案例的回顾。

1.2 灭绝漩涡

理论研究表明濒临灭绝的小群体与大群体在两个方面存在着显著差异。第一，小群体里近亲繁殖的水平提高；第二，遗传漂变引起的等位基因随机丢失的机会也提高了。遗传漂变在形成一个群体遗传结构特征中至关重要。上述过程的增加会最终导致遗传变异的丢失。下面我将一一说明这些观点。

近亲繁殖及其对个体适合度的影响，将于本书的后续章节中详细叙述。在这里，我们可以充分地理解“近亲繁殖”的定义，即携带相同血统等位基因的个体间的交配。在非随机交配的群体中，如一个物种的扩散能力有限，从而割裂成数个亚群（subpopulations），亚群里携带相同血统等位基因的个体（也就是亲属）交配的频率增加。在二倍体生物中，近亲交配的结果是群体杂合度降低。在一个有限大小的封闭群体中，用近交系数计算近亲繁殖的增长速率，公式如下：

$$F_t=1-(1-1/2N)^t$$

其中，N 是群体大小；t 是从建群者开始的世代数目（Falconer and Mackay 1996）。从这个公式可以看出，N 越小，F 增速越快；N 越大，F 增速越缓（图 1.1）。需要注意的，一般频率的近亲繁殖可能不会造成任何有害影响。当近亲繁殖导致交衰退时，对濒危群体产生严重影响。我会在第 3 章中讲述关于近亲繁殖和近交衰退的话题。

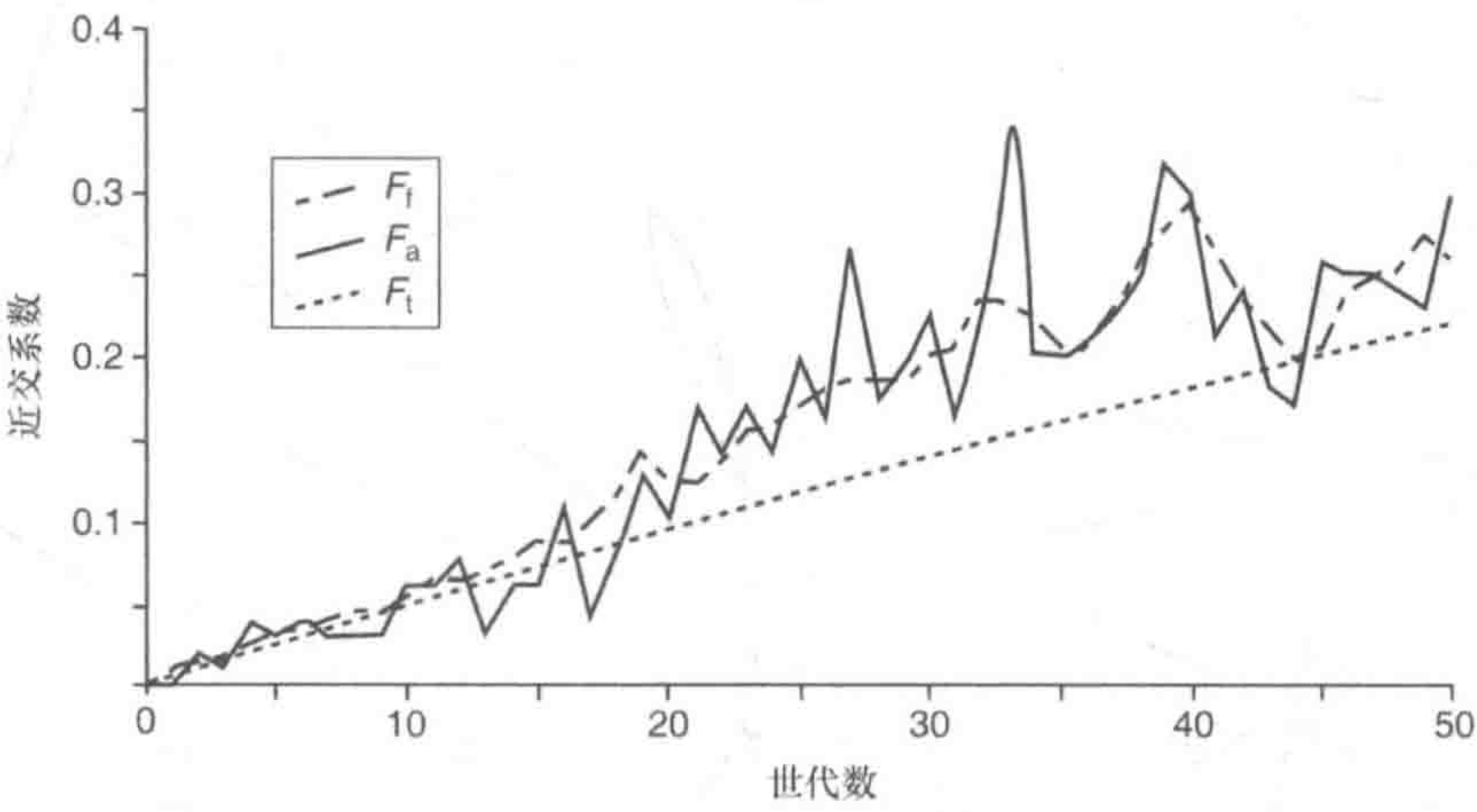


图 1.1 在封闭群体中近亲繁殖随时间增加

F_t 线代表理论期望。其他轨迹线（F_a 和 F_f）基于软件 Populus 5.3 随机模拟绘出

在大群体中，由于孟德尔分离定律和有性繁殖的等位基因随机丢失或多或少可以忽略不计，自然选择是形成等位基因频率的主要原因。然而，在小群体中，遗传漂变是更重要的过程。假定一个等位基因座受到遗传漂变和选择作用，当 $4N_e s>>1$（N_e 是有效群体大小，$1-s$ 是纯合子相对杂合子的适合度）时，选择作用占主导地位；当 $4N_e s<<1$ 时，遗传漂变占主导地位（Kimura 1983）。显而易见，当群体较小时，无论是何等程度的选择作用，遗传漂变的作用都更显著。

一般而言，每一世代选择性的中性遗传变异丢失的比例是 $1/(2N_e)$。因此，小群体（低 N_e）的遗传变异比大型群体丢失得更快（Wright 1969）。在现实群体中，因为存在实际繁殖个体数量和群体中家系规模的变化、群体大小波动和不均衡的性别比例，实际群体大小 N 总是比有效群体大小 N_e 高（Wright 1969）。Frankham（1995）建议，在自然群体中的 N_e/N 比例通常应约为 1∶10。

任何生物的基因组中，很大部分选择上是中性的，或者至少在一个给定的时间点是近似中性的。或许有人会因此认为，遗传变异对群体的生存是无关紧要的。然而，在一个给定时间节点上，即使濒危种群中大多数的既有遗传变异（standing genetic variation）在选择上是中性的，但是那些少数的非中性位点对物种起到了至关重要的作用。当未来的条件改变时，受到中性选择的多态性位点可能会具有选择优势。失去遗传变异的群体已经失去了适应新条件的能力，结果是更容易灭绝。

为了维持数量性状中的遗传变异水平，确保进化生存能力，Franklin（1980）建议最小有效群体大小 N_e=500。此前，为防止由人口统计学上的随机因素引起的群体灭绝，Lande（1976）建议最小群体大小为 50。综合以上考虑，诞生了 50/500 “规则”。N_e/N=0.1 意味着任何濒危群体的实际群体大小应该达到 5000。显然，许多濒危群体大小少于这个临界值。有人认为，事实上大多数数量性状中的遗传变异是有害的，并保持在隐性状态，只有一小部分是近中性和具潜在的适应性。这将使 N_e 的临界值增加到 5000 左右，N 的临界值增加到 50 000 左右（Lande 1995，1999）。假如这些理论应用到实际中，即无论群体是否濒危，都需要考虑遗传因素。

遗传漂变的另一个有害结果是，漂变可引起轻微有害突变的固定。这些突变的固定会降低个体适合度，可能对濒危群体有负面影响。如上述所言，漂变在小群体和濒危群体中更为强烈。由于有害突变的积累随着群体减小而加快，群体可能陷入走向灭绝的恶性循环，这一过程被称为“突变灾难（mutational meltdown）”（Lynch et al.，1993）。对这一过程的重要性，以及它与群体维持的相关性存在争议（可见于 Gaggiotti 2003 的综述）。但轻微有害的突变积累所涉及的时间尺度以百代计，它们只对非常小的群体（N<100）具有严重的影响（Lande 1999）。

在实际的研究中，通常不能区分出近亲繁殖和漂变的相对作用，这是因为它们的作用方向一致，即减少遗传变异。一项对多种植物研究的综述数据显示，相比与其他群体重叠分布的大群体，同一物种的隔离小群体的遗传变异通常较少（图 1.2）。

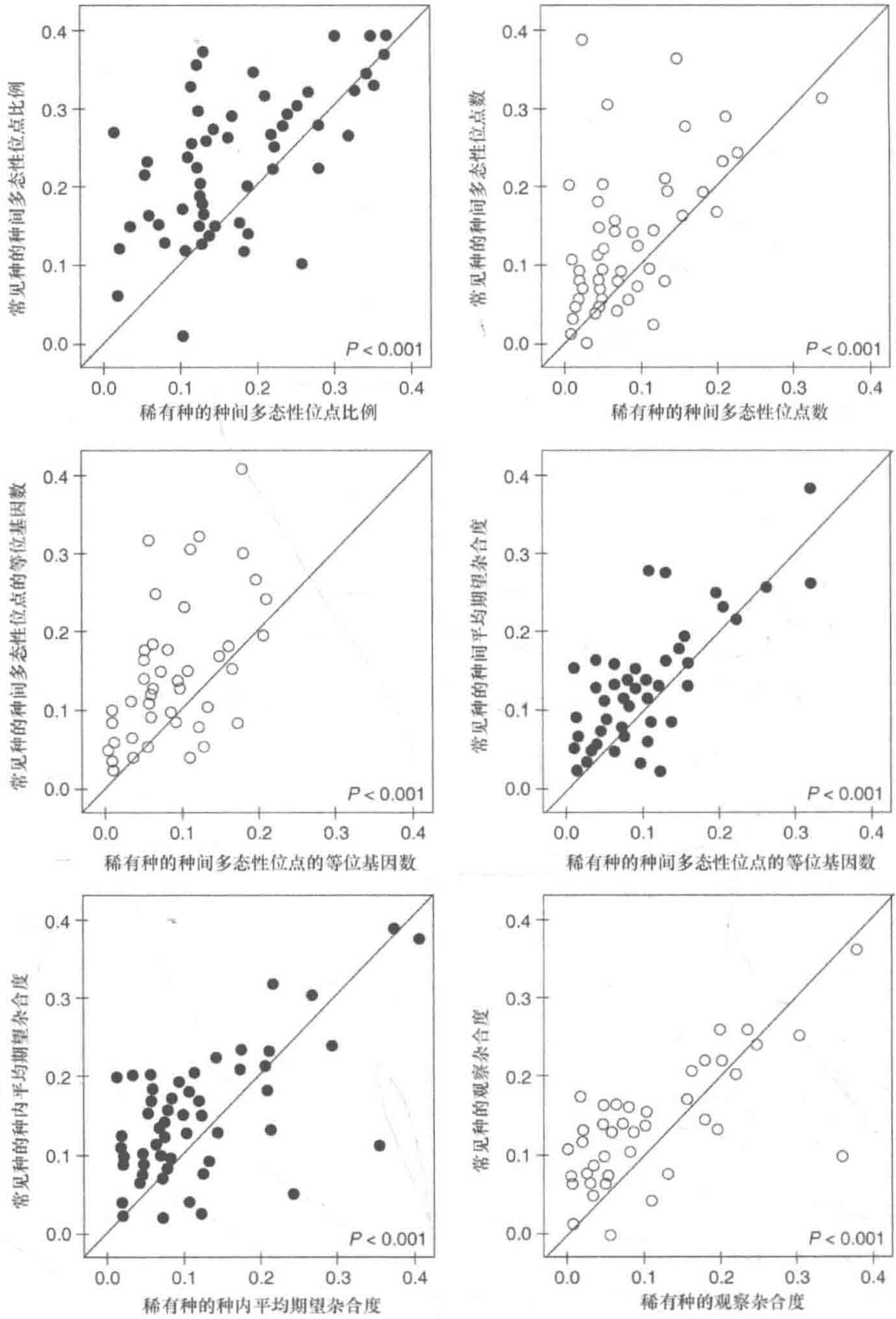


图 1.2 在稀有和常见植物中遗传（同工酶）变异的水平

个体适合度和群体适应能力降低最终会导致繁殖率降低、死亡率增加，这些因素进一步减少了小群体的大小。当群体陷入恶性循环，则被认为困在了灭绝漩

涡（extinction vortex）中（Fagan and Holmes 2006；图 1.3）。

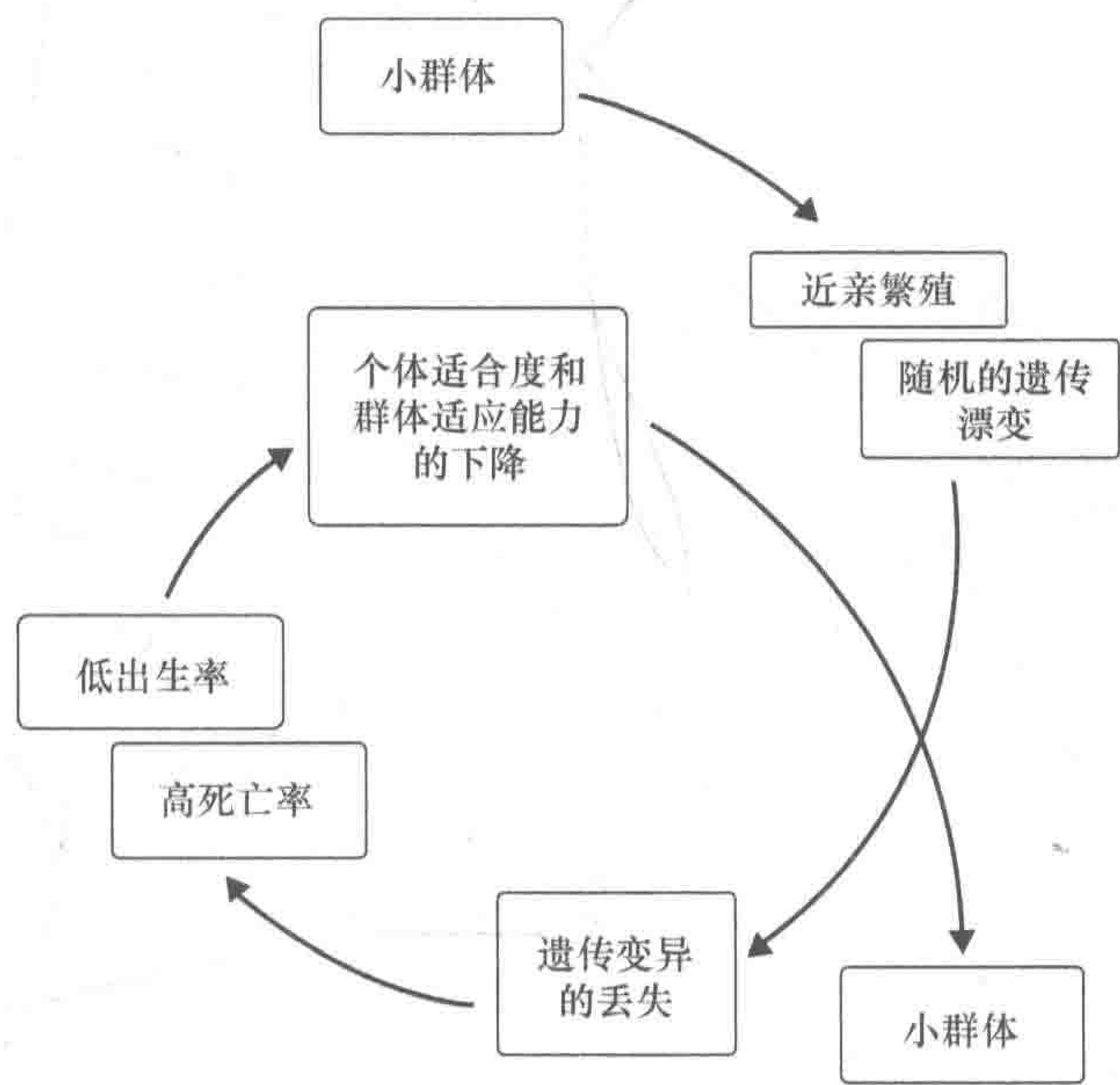


图 1.3　灭绝漩涡的示意图

1.3　野生群体遗传多样性低和灭绝存在联系的证据

遗传因素是否对濒危物种的灭绝有重要影响，灭绝漩涡假说中提出了一些明确的预测。第一个预测是濒危小群体和物种相比于与它们亲缘关系很近的未受胁类群，应该具有更少的遗传变异。这一预测已经在 170 个受威胁类群和它们的未受胁姊妹类群中得到了广泛的荟萃分析（meta-analysis）检验（Spielman et al. 2004）。这项研究包括了植物（被子植物和裸子植物）和动物（脊椎动物和无脊椎动物）。结果显示：在 77%的比较中，受威胁的类群的平均杂合度更低，这一结果显著地拒绝了零假设，即受威胁类群的遗传变异和未受胁类群的不存在差异。受威胁类群的平均杂合度比未受胁类群的要低 35%。这些结果表明受威胁类群具有更低的进化潜力和繁殖适合度，灭绝风险更大。这一研究清楚地显示，除非受到了遗传因素的负面影响，否则大多数类群不会走向灭绝。更进一步讲，在大多数案例中，以一个确定为未受胁的类群作参照，我们可以用遗传方法去判断出受胁类群。第二个预测是，已知的灭绝案例显示物种的灭绝都是以完全丧失遗传多样性为先兆。

显然，很难在物种和群体灭绝之前广泛检测到它们的遗传变异。有一个例外是现在已灭绝的草原榛鸡的指名亚种（*Tympanuchus cupido cupido*），这个亚种曾

经分布在北美洲东部的中大西洋沿岸的草原和荒漠带。这一物种曾经是历史分布区中的常见物种，可是指名亚种于1870年左右在大陆上突然灭绝。最后一只鸟于1932年3月11日在玛莎葡萄园岛（the island Martha's Vineyard）上被发现（Johnson and Dunn 2006）。从博物馆标本的皮肤中提取的DNA和随后的线粒体DNA（mitochondrial DNA，mtDNA）扩增结果显示，在它们灭绝前的30年，玛莎葡萄园岛的草原榛鸡和同时代另一草原榛鸡群体（*attwateri* 亚种，现在也是不同程度的濒临灭绝）相比，具有较低水平的mtDNA的序列变异（Johnson and Dunn 2006）。

物种灭绝或多或少与欧洲人在北美的殖民有关。大约在欧洲人到来后的200年，美国东部殖民化，草原榛鸡开始在北美大陆消失。因此，草原榛鸡的灭绝更加可能是人类活动造成的。其次，玛莎葡萄园岛的榛鸡群体事实上在灭绝之前存在异常低的遗传变异（mtDNA单倍型多样性，$h = 0.363 \pm 0.029$；Johnson and Dunn, 2006）。其他濒危的草原榛鸡群体呈现显著高的单倍型多样性（大约0.900）。当代的唯一例外情况是极度濒危的草原榛鸡的 *attwateri* 亚种，从博物馆中1951～1954年采集的样本所测出来的单倍型多样性为0.900，但来自1998～2000年采集到的亚种单倍型多样性为0.400～0.800，说明 *attwateri* 亚种现在正经历遗传多样性丢失。

生境破坏、人类的过度猎捕、疫病和较低的繁殖率等因素导致物种出现很低的遗传变异，这些被认为是导致物种减少和灭绝的原因，包括我们前面提到的草原榛鸡的例子（Gross 1928；Simberloff 1998；Westemeier et al. 1998）。在整本书中，我将论证所有可能导致濒危群体的灭绝的因素，对物种遗传因素角色的支持不代表可以排除其他生态因素的重要性。然而，事实上认为遗传因素对于物种灭绝的影响并不重要的观点也是存在的（Lande 1988；Caughley 1994；Elgar and Clode 2001）。在草原榛鸡的案例中，我认为人类的过度开发是使得榛鸡群体变小和片段化的主要原因。片段化最终导致榛鸡群体在某一时间点容易随机丢失遗传变异。最后一只榛鸡的灭绝是否是因为遗传效应，我们永远不得而知。但基于mtDNA数据的鉴定方法确实说明最后的榛鸡群体在遗传学上丧失了演化潜力。对这些数据的审慎解释是，众多因素导致了物种灭绝。几乎所有曾经的广布种的灭绝都经历了分布范围缩小、群体片段化和数量严重收缩而灭绝。在遗传学和人口统计学的随机事件导致它们灭绝之前，假如该群体被鉴定为受威胁群体，那么保护它的遗传多样性将是保护工作的重中之重。此外，假如小型的、片段化的群体事实上因为遗传的因素普遍灭亡，那么从遗传上恢复它们的多样性是防止它们灭绝的重要措施（Ingvarsson and Whitlock 2000；Ingvarsson 2002）。

在上面的例子中，灭绝的最终原因是未知的。对濒临灭绝但被保护措施挽救的群体研究，可能会为遗传在灭绝中具重要地位这观点提供线索。例如在斯堪的纳维亚半岛的狼（*Canis lupus*）群体。到20世纪后期，斯堪的纳维亚半岛的狼趋

向灭绝，只有部分游荡个体还存在，而且很多年没有成功繁殖的报道。然而在芬兰，一些繁殖群体仍然存在。在很多年没有繁殖报道后，1983 年在瑞典有一个群体被发现繁殖出了后代，它们和已知最近的芬兰及俄罗斯群体相距大约 1000 km（Liberg et al. 2005）。自那之后，瑞典的群体开始被严密监测，但在圈养群体中显现出近交衰退迹象，如遗传性失明（Laikre and Ryman 1991；Ellegren 1999）。对一个纯种群体自 1983～2002 年的详细研究表明，整个斯堪的纳维亚群体只是通过三只个体建立，而且近交系数 F 在研究期间出生的狼中为 0.00～0.41。第一个冬天幼兽的存活率与近交系数呈强烈负相关（r^2=0.39，P<0.001；Liberg et al. 2005）。在 1991 年，斯堪的纳维亚群体开始增大，现在每年繁殖 10～11 群，相当于 100 只狼左右。有人曾提出，数量的突然增加与 1991 年一只来自芬兰或俄罗斯的成功繁殖者的迁移一致（Vilà et al. 2003）。Vilà 等认为在 1993 年后出生的 72 只狼中，68 只的祖先可以追溯到这只迁入的公狼。因此，如果正确的话，斯堪的纳维亚狼群的遗传恢复很大程度上归功于一个个体。在这个案例中，似乎清楚地说明遗传效应在保护工作中被忽略了（Ingvarsson 2002）。

另一个遗传救援的案例是关于斯堪的纳维亚半岛南端的一个极北蝰（*Vipera berus*）孤立群体的。这一群体具有繁殖率低的严重问题，很可能是近交衰退造成的。随着实验个体移入该群体，繁殖率提升了（Madsen et al. 1999）。这表明，濒危群体间通过强行的或自然发生的低水平个体迁移可以恢复遗传多样性，降低灭绝风险，特别针对近交衰退引起的灭绝风险。

然而，另一个可能的遗传救援详细研究是位于北美中西部的草原榛鸡 *pinnatus* 亚种。这一广布种现在被分成几个分离的区域（Bouzat et al. 1998a）。特别是在分布区的东部——威斯康星州和伊利诺伊州，群体已严重萎缩，数量大大减少。威斯康星州的群体大小在 1930 年估计为 54 850 只（Gross 1930）。自 20 世纪 50 年代以来，估计群体大小在 1500 只左右，直到 2003 年的观测值仍保持如此（Bellinger et al. 2003）。在伊利诺伊州，草原榛鸡从 1933 年的 25 000 多只减少到了 1962 年的 2000 只左右，在 1994 年进一步减少到 46 只（Westemeier et al. 1998）。在威斯康星州的研究已经表明，现代群体中的微卫星等位基因多样性相比取自博物馆历史群体的皮肤样本要小得多（Bellinger et al. 2003）。在伊利诺伊州也得出类似的结果，然而在堪萨斯州、明尼苏达州和内布拉斯加州的更大的群体中，没有观测到等位基因丢失（Bouzat et al. 1998a，1998b）。伊利诺伊州的数据显示，除了在 20 世纪 70 年代早期短暂的雄性数量峰值以外，雄性数量从 1963 年最初的观测值开始呈现稳定下降的趋势。相应的，在观察到的鸟窝中，卵的孵化率也降低了。孵化率从 90%～95%的普遍观测值降低到 1990 年的 65%左右（图 1.4）。继 1992 年对该鸟进行异地保护后，孵化率恢复到了 95%的正常水平（Westemeier et al. 1998）。这些数据表明，孵化率的下降是由于近交衰退，因此努力拯救这些濒危群

体时不能忽略遗传因素。

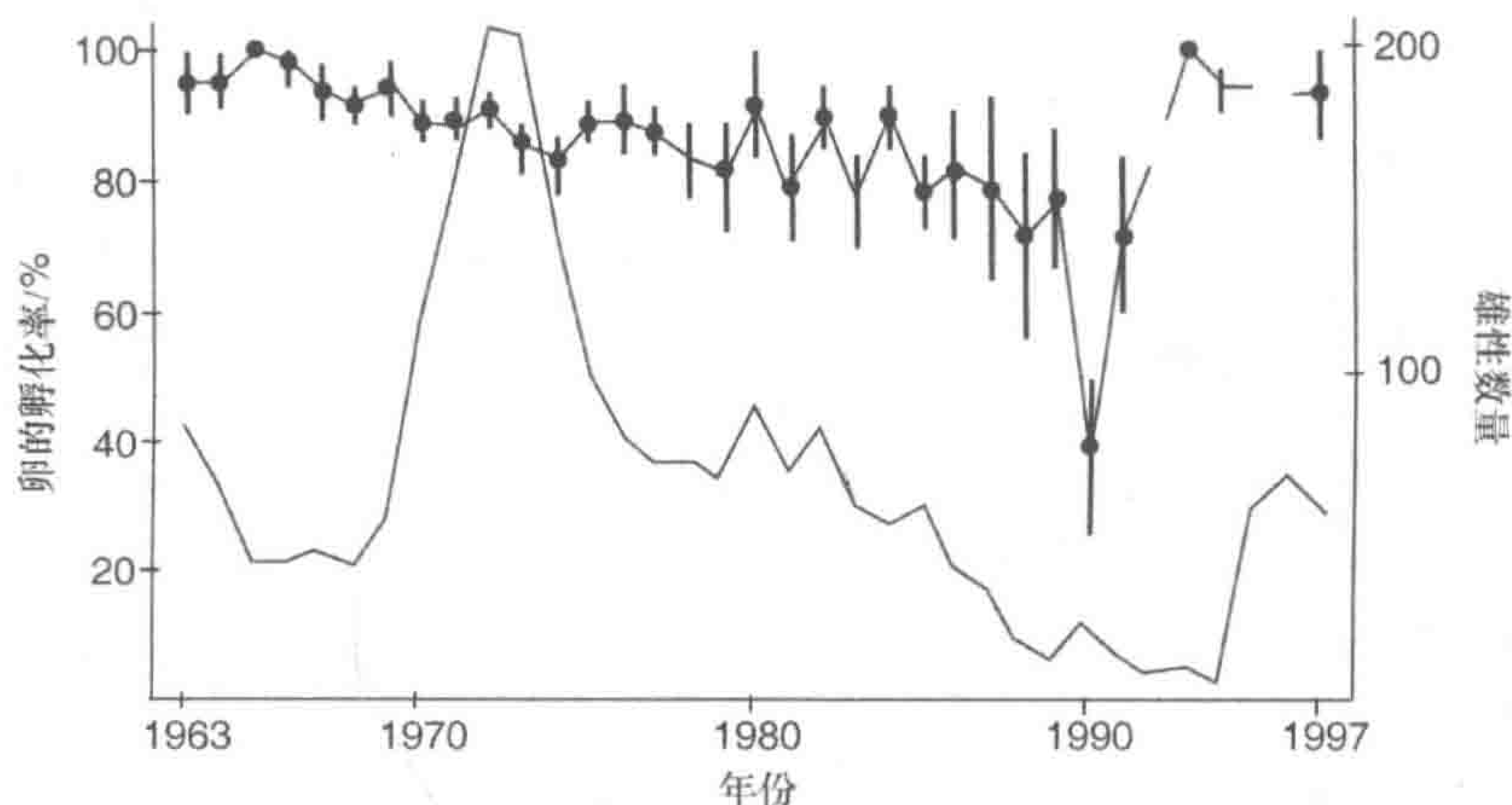


图 1.4 1963～1997 年美国伊利诺伊州贾斯帕村的草原榛鸡年平均孵化率（实心圆）和求偶雄性数量（实线）

非居留地鸟的迁入开始于 1992 年 8 月（来自 Westemeier et al. 1998，在出版商允许下重新绘制）。左边数轴为卵的孵化率，右边数轴为雄性的数量

前面的研究案例在动物身上适用，它们引用的有关遗传变异和灭绝风险的原则也同样适用于植物和其他生物。然而，许多植物学家认为遗传变异在研究濒危群体的灭绝中没有太大作用。Holsinger 和他的同事们甚至认为，植物群体的遗传结构变化有可能威胁到群体的维持，但只有当自交不亲和的等位基因丢失或与繁殖兼容的近缘植物物种杂交产生遗传同化作用时，群体的自我维持才会受到群体遗传结构变化的影响（Holsinger et al. 1999）。因此，导致灭绝的遗传学原因被认为只有在相当极端的条件才非常重要。然而，对珍稀的和寻常的植物物种遗传变异的综述表明，珍稀物种几乎在测量的所有方面都缺少遗传变异，这与灭绝旋涡模型的假设一致。综述的结论是“珍稀植物的遗传变异和基因流比之前公认的结论更显著地减少”（Cole 2003）。

Oostermeijer 和同事们使用人口统计学与遗传学结合的方法对荷兰的植物保护进行了研究（见于 Oostermeijer 等 2003 年的参考文献）。荷兰可能是世界上野外群体片段化和人类影响最严重的地区。荷兰的人口增加、土地利用在过去几个世纪发生了巨大变化。因此，许多本地群体已被片段化，数量也减少了，即所谓的“新稀有化现象（new rares）”（Huennecke 1991）。对荷兰的新稀有化现象的研究表明，遗传变异和群体大小之间的确存在着关系，更小的群体普遍比更大的群体有更少的遗传变异。他们也在蓝色龙胆（*Gentiana pneumonanthe*）（Ooostermeijer et al. 1995）、荷兰的山金车（*Arnica montana*）（Luijten 2001）、丹麦的佩特拉芥菜（*Arabis petraea*）（Schierup 1998）中揭示了遗传变异与群体中的个体适应度相关。

杂合度高的个体比杂合度低的个体表现更好，说明近交衰退可能已在这些群体中发生了。假如群体大小和遗传变异相关，作者预期群体大小和适合度的相关参数也会有相关性。这实际上已经在蓝色龙胆（Oostermeijer et al. 1994；图 1.5）、荷兰山金车（Luijten et al. 2000）和穗根牧草（*Phyteuma spicatum*）（Boerrigter 1995）中观察到了类似的规律。荷兰的新稀有化现象也表明环境的随机性对理解当地灭绝很重要，作者认为采取包含人口统计学和遗传学因素的方法可以保护濒危植物群体。

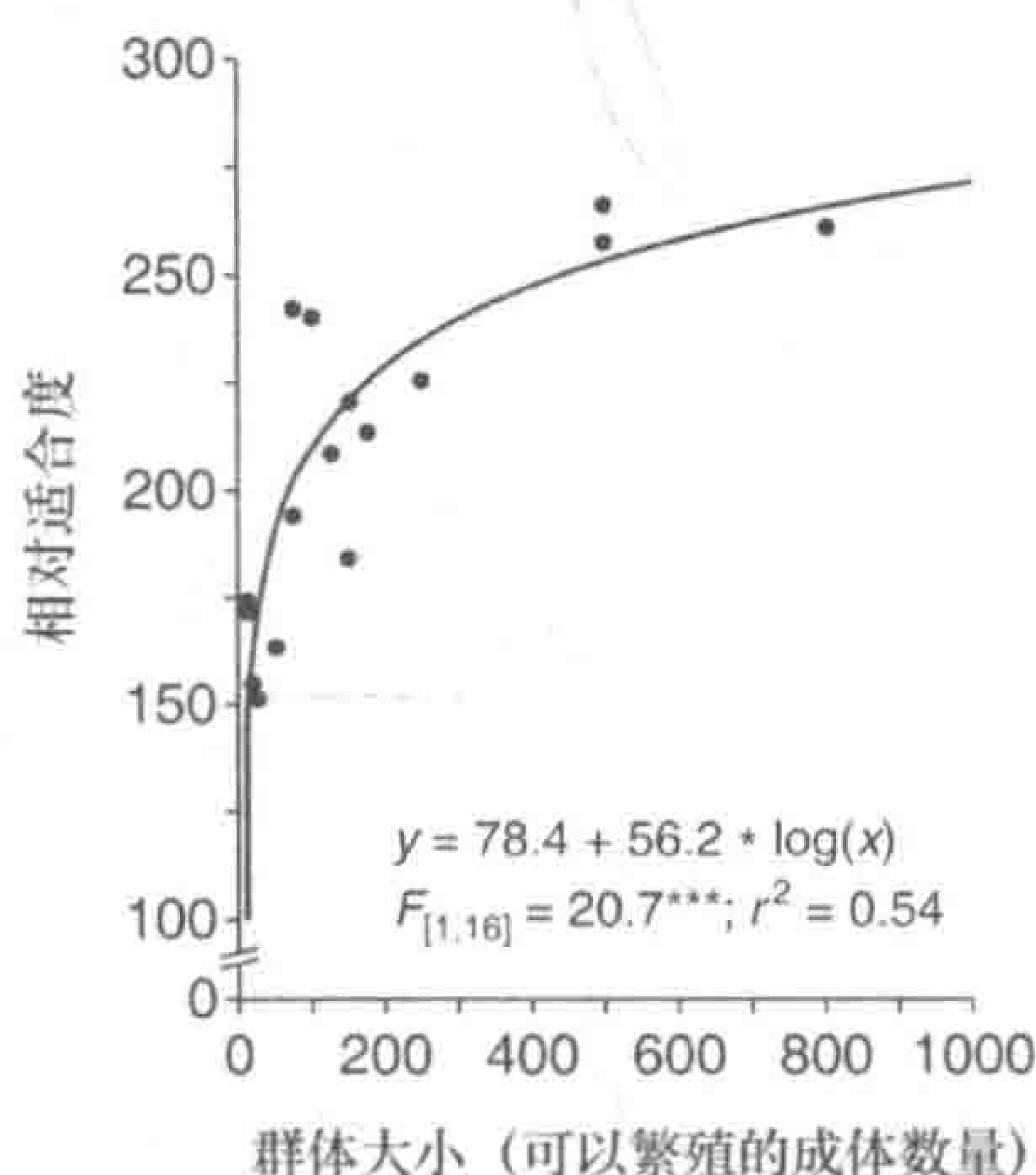


图 1.5　蓝色龙胆中相对适合度（纵坐标）与群体大小（可繁殖的成体数量，横坐标）的关系（引自 Oostermeijer et al. 2003，在出版商允许下重新绘制）

上面的所有例子均显示出，濒危物种受到的遗传因素的影响主要是由近交衰退引起的直接遗传威胁，而不是由于遗传变异的随机丢失或弱的有害等位基因的固定所导致的。我将回顾一些看起来遗传变异较低但是群体却很繁盛的例子，但是我现在先来讨论跟上述论点有关的案例。有人提出，近交衰退可能不会总是濒临灭绝群体中近亲繁殖的结果。最著名的例子之一是毛里求斯隼（*Falco punctatus*）。这一群体已处于严重瓶颈期（数量萎缩）。全球群体在 1972 年骤减到一个繁殖对，但在 1994 年又超过 200 只，其中并没有近交衰退的征兆（Groombridge et al. 2000）。然而这一群体显然是近亲繁殖的后代，因为是 20 世纪 70 年代同一对的后代。对这个看似存在矛盾的案例一个可能的解释是在严重瓶颈期间，不仅有利的遗传变异丢失，而且导致近交衰退的等位基因也丢失了。群体从它们的有害等位基因丧失中获得净化，变得可以承受高水平的近亲繁殖而不会遭遇近交衰退。

因此近亲繁殖在有些情况会导致近交衰退，但非全部。对一种豹纹蝶——庆网蛱蝶（*Melitaea cinxia*）的研究（Saccheri et al. 1998）暗示了为什么有些物种似乎能承受近亲繁殖带来的不利影响，有些却不能。研究显示，当地灭绝风险既取

决于生态上的变化（主要是地理隔离程度和群体大小），又取决于遗传上的变异（图1.6）。特别是当生态与遗传因素的影响互作而共同发生的时候，小型近交群体更易灭绝。研究表明，在这种蝴蝶的集合群体系统中，净化作用不足以使得近交衰退相关的等位基因被完全清除。有害等位基因可能永远以杂合状态保留在不会灭绝的数量大的群体内。然而，在数量小的近交群体中，这些等位基因可能表现为纯合子，造成近交衰退，并最终导致群体灭绝。在有些物种如毛里求斯隼中，有害等位基因不会潜伏在一个大型群体中，但将面临选择并被剔除。然而，像毛里求斯隼这样的群体可能会面对一种风险，就是即使受到选择，弱的有害等位基因却因偶然情况固定下来。

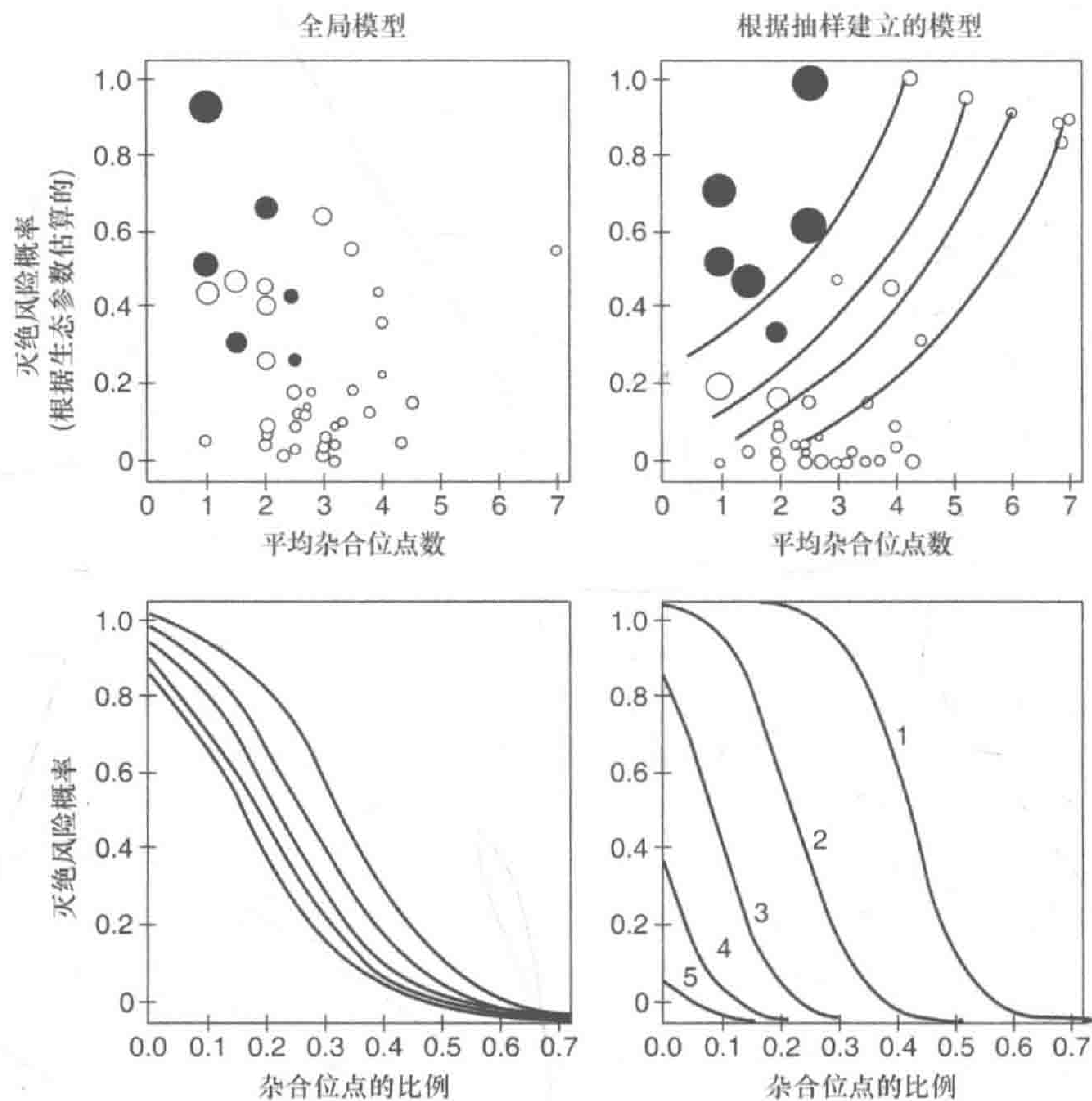


图 1.6　使用两种统计模型得到的庆网蛱蝶近亲繁殖和灭绝风险（引自 Saccheri et al. 1998）
上面两幅图表示：通过不考虑杂合性的模型预测的灭绝概率（黑色圆圈表示灭绝群体，白色圆圈表示幸存群体），以及通过考虑杂合性的完整模型预测的灭绝概率。灭绝概率与圆的大小成比例。对于示例模型，我们用包括生态因子与杂合性的模型画出了预测的灭绝风险的拟合等斜线。下面两幅图展示了通过模型预测的局部灭绝风险和杂合性的关系，以及模型预测得到的 1～5 个幼虫实验组的局部群体大小（在出版商允许下重新绘制）

在其他濒危物种的研究案例中，像上面例子中的毛里求斯隼，似乎有遗传多样性较低的遗传，但群体仍然十分的繁盛且群体的数量还在增加。马鹿（*Cervus elaphus*）的挪威种群的微卫星遗传变异和其他有较低遗传变异的受胁鹿科动物相比是同一水平，但近几年挪威马鹿的数量明显增加了（J. Höglund and L. Kastdalen，未发表结果）。另一个例子是在 20 世纪 20 年代由挪威引进的几只河狸（*Castor fiber*）个体建立的瑞典种群，它们的引进原因是 19 世纪后期的捕杀导致了源群体的灭绝（Ellegren et al. 1993；Mikko and Andersson 1995）。今天海狸的瑞典群体正在扩张，数量已达千只。相似案例的列表可以列很长，如在北象海豹（*Mirounga angustirostrus*）的研究中也发现了类似的现象（Bonnell and Selander 1974；Hoelzel et al. 1993）。一个可能的解释是净化作用给这些濒危物种提供了逃离近交衰退威胁的短期机会。然而，遗传多样性匮乏的群体可能面对更长期的、不可避免的威胁。西方松鸡（*Tetrao urogallus*）的苏格兰群体在 1790 年左右趋近灭绝。再引入的工作自 1835 年开始，首先从瑞典引入了 65 只个体。1930～1970 年，估计数量在略高于 20 000 只的水平波动，这表明该物种已经达到了当地的承载能力。然而，从 20 世纪 70 年代中期开始，数量暴跌到 2000 只左右，不过它们生存的森林栖息地范围增大了。已有确凿证据解释了苏格兰西方松鸡在数量上减少的遗传原因。然而，苏格兰西方松鸡的遗传变异确实比这一物种在其他地方种群更少（但与西班牙比利牛斯山区和坎塔布连山的一样低），因此可能是奠基者事件引起了较低遗传变异，导致了群体大小减少（S. Piertney，个人通讯）。

有类似历史的物种还有通讯螯虾（*Pacifastacus leniusculus*），它原产于美国西北部和加拿大西南部，在 20 世纪因为能免疫由变形丝囊菌（*Aphanomyces astaci*）引起的疾病而引进到瑞典。这种真菌对欧洲的奥斯塔螯虾（*Astacus astacus*）是致命的。这种真菌性疾病起源于北美，北美的螯虾和这种真菌有一段很长的进化史，所以通讯螯虾能忍受这种疾病。讽刺的是，在瑞典水域主要传播疾病的是引入的通讯螯虾，导致本地物种大量灭绝。另外有证据表明，通讯螯虾是优秀的竞争者，它们经常排斥生活在同一水域中的奥斯塔螯虾。总之，引进通讯螯虾到斯堪的纳维亚并不是个好主意。限于我所了解的情况可能不够充分，有可能通讯螯虾在它们被引进到瑞典时发生的奠基者事件中出现了遗传变异丢失。在写这本书的时候，不知出于什么原因，瑞典的通讯螯虾似乎发生了群体崩溃（Söderhäll 2004），这可能给当地奥斯塔螯虾群体第二次复育机会。通讯螯虾可能是又一例子，说明带着低遗传差异的少量个体在引进后生活能暂时稳定。从长远来看，遗传变异太低以至于不能保护物种面临的新威胁。在上述的案例里，需要对苏格兰西方松鸡和通讯螯虾进行更多的研究，来验证这一假设的正确性。

1.4 实验研究

已有一些实验研究测试是否近亲繁殖和（或）遗传变异的减少程度导致更大的灭绝风险。事实上，小型群体和（或）近交实验群体的灭绝速率比大型群体更快（Latter et al. 1995；Frankham 1996；Newman and Pilson 1997；Bryant et al. 1999；Reed and Bryant 2000；Reed et al. 2003）。

使用家蝇（*Musca domestica*）为对象，Reed 和 Bryant（2000）比较了群体的适合度和灭绝速率，维持 50、500 或 1500 的有效群体大小，或通过瓶颈效应（bottleneck）减少 N_e 到 5 个个体。结果表明，通过幼虫生存能力、卵蛋总数、后代总数测定的群体适合度，与群体大小密切相关。有效群体大小为 50 的小群体的六个世代，在 3 个适合度指标上显著低于更大的群体。适合度的丢失降低了 6 个品系中的 5 个品系的寿命，并在第 64 代灭绝。在另一实验中也得到了相似的结果（Bryant et al. 1999）。将两个实验放在综合在一起，预期灭绝时间（基于生存能力-世代数的回归）在有效群体大小不超过 100 时低于 100 代，在 N_e 不少于 500 时超过 400 代。

这个实验的另一方面是体现了奠基者效应的“净化作用”，当群体瓶颈在 N_e=5 时，让它在 7 代后增长到大约 2500 个个体，家系在初始瓶颈后表现出幼虫生存能力的恢复（Bryant et al. 1990）。这表明，这些家系导致近交衰退的等位基因已经被净化了，这与上面引用的为什么毛里求斯猎隼可以在严重的近亲繁殖中存活的解释相呼应。然而，净化的家系在食物短缺和高温的压力下表现更糟。研究者认为，鉴于一个瓶颈群体仅仅在适合度低的情况下适应特定环境，表明适合度缺失可能超过瓶颈效应导致的净化作用所带来的好处（Reed and Bryant 2000）。

对一种月见草——克拉花（*Clarkia pulchella*）的研究进一步表明，近亲繁殖的群体有更高的灭绝风险。在拥有相同数量但亲缘关系不同的奠基者的实验群体中，近亲繁殖群体有更强的灭绝倾向。

使用黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）的实验研究试图检验近亲繁殖和群体大小对累积灭绝速率的相对作用（Reed et al. 2003）。随着近亲繁殖水平的提高，相对于较大群体的实验组（N_e=10 和 20），小群体（N_e=2.6）的存活率降低得更快（图 1.7）。最小群体实验组中，任何程度的近亲繁殖都比其他实验组更容易灭绝。这一结果可能意味着近亲繁殖越慢（N_e 越大），有害等位基因的净化越有效。然而，作者对这样的解释持审慎的态度，主要是因为预期会被净化的两个 *Ne* 更高的实验组都比远亲繁殖的品系存活率更低。因此，他们不认为净化是清除了所有导致近交衰退的有害等位基因。因此得出结论：净化对减少近交衰退普遍无效（Allendorf and Ryman 2002）。其他实验表明，近交群体比非近交群体在短期内有

显著更高的灭绝可能性（Bijlsma et al. 1999，2000）。此外，近亲繁殖的负面影响在环境胁迫下增强。这些结果表明，近亲繁殖和环境压力协同作用，使小型群体更容易灭绝。

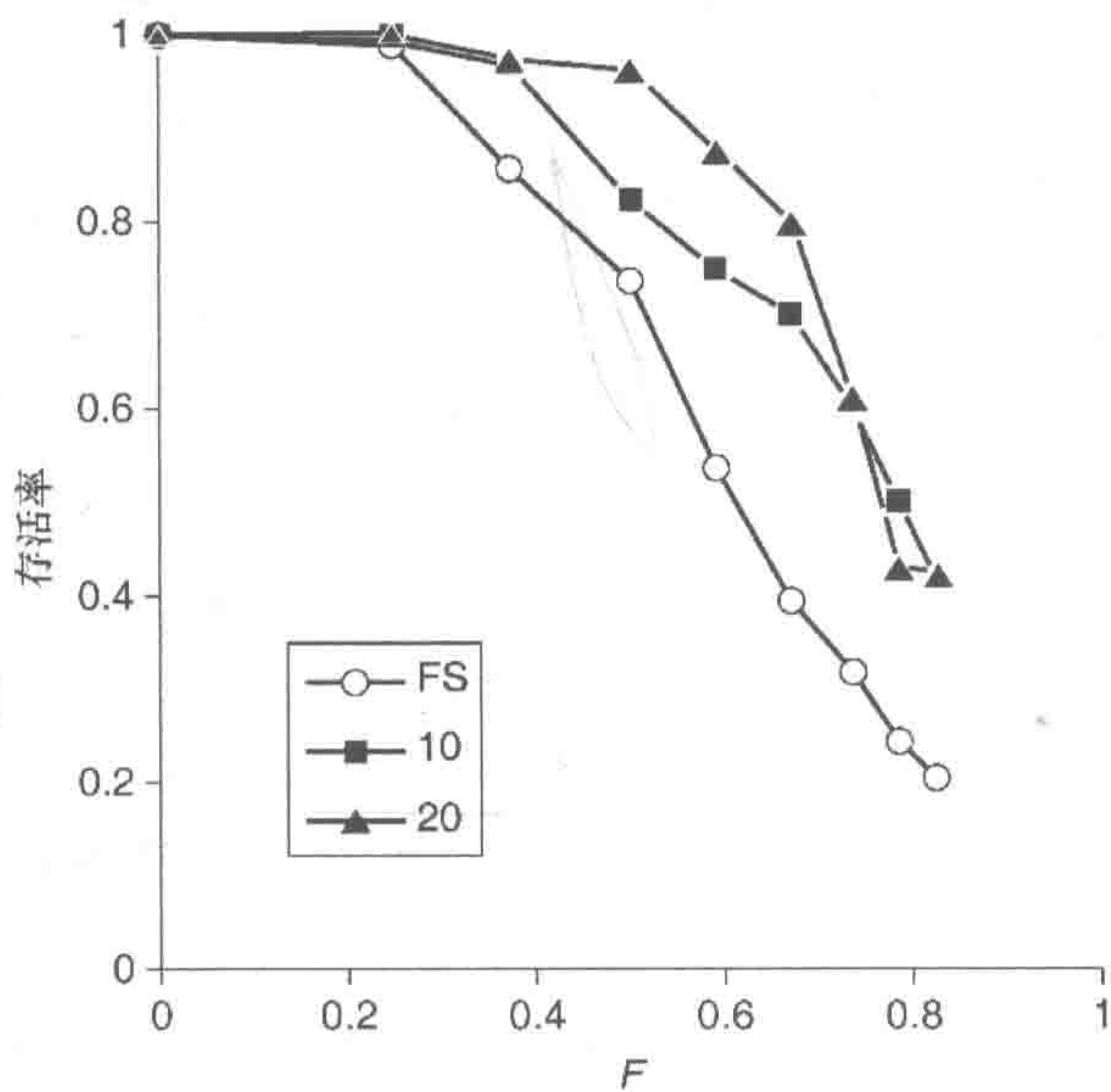


图 1.7 三个群体大小受到实验处理的黑腹果蝇累积存活率相对近交系数 F 的关系：N_e=2.6（FS）、N_e=10（10）和 N_e=20（20）（引自 Reed et al. 2003，在出版商允许下重新绘制）

存活受到了环境胁迫的负面影响，使得任何给定近亲繁殖程度的群体在遭受不同条件环境压力时存活率均降低（Reed et al. 2002）。这再次表明，近亲繁殖的有害影响是有环境依赖性的（Armbruster and Reed 2005）。因为受胁迫群体经常生活在选择压力大的边缘栖息地，所以在这样的条件下，近亲繁殖的负面影响可能被夸大了。在片脚类动物杜氏钩虾（*Gammarus duebeni*）的实验中，受到不同压力的实验组的存活率与对照组（没有经过任何处理的远交品系，近交系数 F=0）的没有区别。然而，近交品系（F=0.25）在选择压力大的野外条件下，存活率减小了（Gamfeldt and Källström 2007）。近交衰退的环境依赖性说明，在保护生物学领域，遗传学研究不能和生态学研究孤立存在。遗传学需要放在生态和群体统计的角度，来增加我们对可能导致群体灭绝和生物多样性丧失的各种因素的理解。

1.5 结　　论

对物种灭绝的遗传原因的很多研究似乎表明，近交衰退是保护生物学的主要遗传问题。另外，几乎没有任何研究可以令人信服地表明，适合度降低或者弱有

害等位基因的固定能够导致灭绝。因此，保护生物学家对于近亲繁殖和近交衰退是审慎的。然而，正如在野生濒危物种研究和一些实验研究中显示的那样，这样的结论可能还为时过早。野外记录中不可能排除近亲繁殖这一因素，因为等位基因的丢失和近亲繁殖都会导致群体灭绝，且它们的作用可重叠（近亲繁殖的后果在低 N_e 时被放大）。此外，适合度丢失的影响可能只会在长期过程中发现，也就是在时间尺度上超越研究项目的周期甚至超出研究者的寿命。对于等位基因的缺失和近亲繁殖，可以用相同的保护措施来治理，即从同种的不同群体引入个体来恢复和维持受威胁群体的遗传变异。然而，在后续章节的讨论中，这样的再引入并不总是没有争议。

2　如何衡量遗传变异

从前一章的例子中我们可以很明显地看出，有很多方法能够用来测定和分析遗传变异。我们选择分析方法时也需要考虑所用遗传标记的类型。此外，遗传变异在检测时所表现出的不同结果取决于我们所使用的标记受到的选择是中性的还是非中性的。在这一章里，我列出了保护遗传学研究用来衡量遗传变异的最常见方法（Karp et al. 1997）。根据采集到的数据类型的不同，我选择了一些方法进行讨论。关于不同标记物的应用总结在表 2.1 中。

表 2.1　遗传标记及在遗传变异研究中的可行性（引自 Krutowskii and Neal 2001）。通常认为这些标记可测定中性 DNA 变异

特性	RFLP	微卫星	RAPD	AFLP	等位酶
来源	基因组内未知的/由基因开发的	未知区域	未知区域	未知区域	由基因开发的
分析的最大理论可能位点数	受到(成千上万)限制性位点（核苷酸）多态性的限制	受到基因组大小和基因组中(成千上万)简单重复的限制	受到基因组大小和（成千上万）核苷酸多态性的限制	受到（成千上万）限制性位点（核苷酸）多态性的限制	酶相关基因数量和可用的（30-50种）酶组织化学分析的限制
显性	共显性的	共显性的	显性的	显性的	共显性的
无效等位基因	极度罕见	偶尔	不适用	不适用	罕见
可转移性	跨属	种内或属内	种内	种内	跨科和属
可重复性	非常高	较高	较低	较高	非常高
要求取样量	2～10 mg DNA	10～20 ng DNA	2～10 ng DNA	0.2～1 μg DNA	几毫克组织样本
开发难度	难	难	容易	一般	一般
分析难度	难	较易	较易	较难	较易
自动化/操作难度	难	可行	可行	可行	难
基因组和 QTL 定位潜力	好	好	非常好	非常好	有限
比较定位潜力	好	有限	非常有限	非常有限	极好
候选基因定位潜力	有限	有限	不可用	不可用	有限
研究适应性遗传变异的潜力	有限	有限	有限	有限	好
开发成本	一般	昂贵	便宜	一般	便宜
分析成本	一般	一般	便宜	较贵	便宜
设备成本	一般	较贵	一般	较贵	便宜

注：RFLP，Restriction Fragment Length Polymorphism，限制性片段长度多态性；RAPD，Random Amplified Polymorphic DNA，随机扩增多态性 DNA；AFLP，Amplified Fragment Length Polymorphism，扩增片段长度多态性；QTL，Quantitative Trait Locus,数量性状位点。

2.1 共显性的中性变异

在研究濒危物种的遗传变异时常常使用中性或近中性的遗传标记，如等位酶、微卫星标记，以及现在被越来越多人采用的中性的单核苷酸位点多态性（single nucleotide polymorphism，SNP）遗传标记。这些都是共显性（codominant）标记，意味着在二倍体基因组中的任何位点均存在两个拷贝。这里我们讲的中性，是指在这些位点的研究中，没有证据显示其受到的选择对等位基因频率有影响。这一点常常用来检测等位基因频率是否偏离哈迪-温伯格平衡的预期。哈迪-温伯格平衡预期是指一个位点的杂合度符合孟德尔遗传定律中等位基因随机分离。

等位酶（或同工酶）位点的遗传变异可以用淀粉凝胶电泳在蛋白质水平进行检测。等位酶也曾经在遗传变异的早期研究中作为分子标记。尽管关于等位酶变异（allozyme variation）的研究仍在进行，但已不常见。如今，研究当代濒危物种的遗传变异往往用微卫星替代等位酶。不过，在对非模式生物进行研究时，SNP仍然并不常见。

等位酶逐渐被微卫星取代，主要有两个原因。第一，等位酶变异有时被怀疑是非中性的，这意味着至少在群体内或群体间观测到的一些变异是受选择作用的（如Szarowska et al. 1998）。然而，同样的问题在微卫星技术上也有出现（Kauer et al. 2003）。因此，这看起来并不是用微卫星代替等位酶作为保护遗传学研究中常用的分子标记的原因。但是，第二个原因——破坏性取样就有关系了。等位酶的研究需要更大量的高质量组织，所以经常需要捕杀进行研究的生物来取样。显然，在研究濒危物种时，这肯定不是一个很好的选择。而且，即使我们有足够多的材料，并可以在不杀害研究对象的情况下收集样品，从组织的保存直到相关的材料可以在实验室中被提取出 DNA，与微卫星相比，等位酶的步骤也更为繁琐。然而，等位酶也并非没有优点，当有足够的材料时，等位酶操作只需要相对低的实验成本。

SNP 在模式生物的遗传研究中越来越受欢迎。最经常提到的一个原因是，相较于微卫星，设计一个 SNP 突变的过程既简单又直观。在生物体中微卫星发生进化的主要原因是 DNA 转录时内源性 DNA 聚合酶的滑动。但是人们发现其他变异过程可能也在这一过程中参与并影响了微卫星位点，因而使分析和解释变得复杂（Eisen 1999）。根据逐步突变模型（stepwise mutation model），新的微卫星等位基因的出现是由于重复碱基的添加或丢失。这种情况的发生是相对常见的（突变率约为 10^{-3}）。结果是，所研究等位基因的任何状态都可以不止一次在进化史上发生。与此相反，SNP 进化的主要原因是由于插入或缺失造成的点突变，相比之下更难发生（每一代突变率为 10^{-6}）。因此，任何两个 SNP 等位基因都可以准确地追溯到历史上相对应的特有变异事件，这大大简化了对现今种群遗传变异模式的理论

理解，以及计算这类种群遗传变异的方法和工具。

对于等位酶、微卫星和 SNP 来说，许多研究遗传变异的分析方法都是相同的。以下将列出出现在文献中的一些指标。

2.1.1 多态位点百分比

这可能会被认为是一个简单直观的方法，但在不同的研究中有不同的标准来确定位点的多态性。一个位点中最常见的等位基因频率如果是 100%、99%或 95%的话，这一个位点就可以被定义为单态位点。由于稀有等位基因丢失是种群规模减少最直接的结果之一，无论是将 100%还是 99%定为标准，都可能是评估濒危物种的有效方式。

2.1.2 每个位点的等位基因数/等位基因丰富度

每个位点的等位基因数的估算取决于样本群体的大小，因此在比较不同大小的样本群体时，常常用等位基因丰度（allelic richness）来代替每一位点的等位基因数目。等位基因丰度是指每一位点的等位基因数目所对应最低样本大小群体中观测到的数目（El-Mousadik and Petit 1996），即在几个样本量不同的种群内，选取样本数最小的种群作为参照，求平均的等位基因数量。

2.1.3 期望杂合度

这通常也被称为基因多样性，是指给定观察到的等位基因频率群体中的预期杂合度。它被定义为 $H_e=1-\sum p_i^2$，其中，p_i 是第 i 个等位基因在一个基因位点的频率，而研究发现基因位点数的平均值基本是不变的。

2.1.4 观察杂合度

观察杂合度是观察到杂合度比例的平均值 H_0。

2.1.5 近交系数

在种群中观察到的杂合度与同一位点的期望杂合度可能不同，造成这种结果的可能原因有几个。其中之一近亲繁殖会产生更多纯合子的后代，低于哈迪-温伯格平衡的预期（Conner and Hartl 2004）。假定近亲繁殖是导致偏离哈迪-温伯格平衡期望的唯一原因，在种群中的平均近交系数可估计为 $F_{IS}=(H_e-H_0)/H_e$。

2.1.6 群体分化

Wright（1929，1951，1969）第一个指出，当一个物种分化为多个亚种群时，在考虑整个物种的情况下，交配是非随机的。因此，即使交配在种群内随机，物种在分化为不同亚种群时，亚种群内将可能发生近交。种群分化的程度可能因此被认为完全是由于亚种群分化产生的近交系数，通常情况下它被定义为 $F_{ST}=(H_T-H_S)/H_T$，其中，H_T 是指所有种群的杂合度；H_S 是指所有亚种群中的平均杂合度。有关如何解释和计算 F_{ST}（见本书第 3 章），有非常多且应用广泛的文献。在保护研究中，F_{ST} 尤为重要，因为在小群体中，漂变可能会在种群大小缩减时影响增大。因此我们可以预测，在濒危物种的种群中，将比那些常见物种种群有更多分化的情况出现。通常来说，对种群之间差异更大的样本，可以使用配对 F_{ST}（pairwise F_{ST}）。在这种情况下，H_T 则按照所研究的两个种群合并后的样品进行计算。

2.1.7 基因流

假设有一个小岛模型，也就是说，所有的种群之间距离相等，种群大小也基本相同。Wright 的研究发现每一代个体的迁移个体数目与种群分化程度呈负相关关系，即 $F_{ST} = 1/(1 + 4N\mathrm{m})$（$N$ 表示为种群繁殖个体数，m 表示迁移个体的比例）。因此，这一假设模型在了解种群等位基因频率后能够求出 F_{ST} 值，进而能够求出 Nm。这一假设模型需要从等位基因频率推导 Nm 的值，但却基本难以与目前所有基于等位基因频率均值计算基因流的方法相匹配（Slatkin 1985；Slatkin and Barton 1989）。

2.2 显性的中性标记

通过共显性分子标记，研究者可以推断每个位点等位基因的状态，并直接推断杂合度水平。目前人们已经开发出了多种方法（见下文），可以应用于研究者不能直接通过分子标记推断“等位基因”杂合度的情况。这些标记方法通常被称为显性分子标记，原理在于如果一个位点有完全显性时，人们就不能从表型推断该等位基因的状态。

首个用到 PCR 技术的的标记叫做随机扩增多态性 DNA（RAPD）。用此方法的研究者使用短的引物（长度为 10～12 对碱基），在退火时随机结合 DNA，并扩增位于任何两个随机引物对之间的 DNA 片段。如果引物在 PCR 退火时结合模板

DNA，并且目标 DNA 序列足够短的话，随机的扩增产物则能够被可视化，亦即目标生物体的 RAPD 轮廓。

RAPD 标记的优点是，该技术不需要对目标的 DNA 序列有任何了解，而且成本相对便宜。但其中的一个缺点是，该技术对实验室条件和所用 DNA 模板的质量非常敏感。因此，扩增产物的存在与否，可能是由于在目标 DNA 序列之间的差异（所需的条件），或仅仅是因为样本中的 DNA 质量或数量不同。

利用限制性片段长度多态性（RFLP）的方法，研究人员也可能检测到种群内和种群间的显性遗传变异。这种方法的优势在于，它利用不同系统的限制酶（限制性核酸内切酶），可在整个基因组中切除特定靶 DNA 序列。不同 RFLP 图谱的产生依赖于特定的靶序列是否存在、序列中是否发生碱基插入/缺失，以及交叉互换的发生。 RFLP 图谱可借助 DNA 印迹（即 Southern blots）实现富集化与可视化，也可以借助其他显像技术进行。

使用 RFLP 标记的优点是，它是一种廉价而且简单的技术，与 RAPD 相同，它并不需要对靶 DNA 序列有任何预先的了解（限制性位点存在于所有生命体）。它被认为是比使用 RAPD 标记更可靠和可重复的方法。该方法的缺点是，研究者需要高质量、高浓度的 DNA 样本，并且需要密集的操作。此外，凝胶上的 RFLP 条带并不总是那么容易稀释，即使我们拥有样本的家族 DNA 信息，情况也不一定有任何好转。出于这个原因，目前利用 RFLP 进行种群相关的研究非常少，这一方法也不常用于评估濒危种群遗传变异方面的研究。

扩增片段长度多态性（AFLP），是一种类似于 RFLP 的方法。像 RFLP 一样，AFLP 利用限制性核酸内切酶切割基因组 DNA。之后，互补双链的连接蛋白将结合到限制性片段的末端，再利用与连接蛋白及限制性位点片段互补的引物即可显现结果（参见 Bensch et al. 2002； Vos et al. 1995）。

AFLP 被认为是比使用 RFLP 标记具有更高可重复性的技术方法，并已成为评估遗传变异，特别是用在非模式生物中的一种常用方法，因为它也不需要对靶 DNA 序列的任何了解。而由于 AFLP 借助使用了 PCR 技术，因此其所需样本 DNA 的数量和质量均少于 RFLP 研究中所需要的 DNA 数量及质量。

正如我们前面所指出的，上面列出的各项技术所产生的均为显性标记类型的数据。因此，文章开头提到的一些指标，如杂合度，是不能直接通过这些数据计算出来的。然而，通过对显性标记数据的解读，以及通过与传统技术的比较，我们还是能够提出不同的假设。例如，假设一个遗传位点具有（或不具有）相对应的限制性片段，我们便可以将该等位基因频率估计为 q，等同于“0”表型频率的平方根（Lynch and Milligan 1994）。目前也发展出了一些估算核苷酸和单倍型多样性的方法（见下文；另见 Nei and Tajima 1981； Nei 1987）。

2.3 序列变异

对于序列数据的研究，最常见的便是检测其可能发生氨基酸替换的蛋白质编码基因外显子序列（非中性）的变化，以及研究其编码的蛋白质的生化特性。蛋白质编码基因的外显子中，这样的替换被称为非同义替换。但是，非中性的变化也存在于基因组中的其他地方，如在控制区域、增强子和启动子区域等，并会与转录因子结合。如果这种替换具有一定的表型效应，那便有可能受到自然选择的影响。

沉默/同义突变是指不具有任何表型效应的基因变化。例如，如果蛋白质编码基因的外显子区域内一个突变并不改变蛋白质的氨基酸序列，这种突变即被称为同义替换。沉默突变也可能发生在如内含子和假基因等非编码 DNA 上。

在编码蛋白质的基因外显子中，可能由于遗传密码的冗余发生同义替换。遗传密码以三个核苷酸（称为密码子）的形式表达，其中有些密码子位点具有简并性，即一些核苷酸的取代不会改变氨基酸的序列。例如，第三密码子位点可以存在四倍于其它位点的简并性，所以无论该位点的核苷酸如何变化，这一组密码子均编码相同的氨基酸。我们将沉默突变定义为进化中性的突变。

对序列数据进行遗传变异研究的最常见的方法列举如下。

2.3.1 变异位点比例

这一方法通过统计样本序列中各种独立变异位点数量（S），以及位点变异总数（N）进行计算（Nei and Kumar 2000）：

$$p_{\mathrm{n}} = S/N$$

这一估算值的方差可以计算为

$$V(p_{\mathrm{n}}) = [p(1-p)]/N$$

2.3.2 核苷酸多样性

核苷酸多样性表示从样本种群中任意选取两组序列，它们之间存在核苷酸差异的平均个数（Nei and Li 1979；Nei 1987）：

$$\Pi = \sum x_i x_j \pi_{ij}$$

其中，x_i 和 x_j 表示第 i 个与第 j 个序列；π_{ij} 表示序列 i 与序列 j 之间存在不同核苷酸的比例。在随机交配群体中，核苷酸多样性定义为种群在核苷酸水平的杂合度，用下面的等式估算

$$\pi = N/(N-1) = \sum x_i x_j \pi_{ij}$$

其中，N 表示序列的数量。获得方差的公式在 Nei（1987）中有描述，重采样方法在 Nei 和 Kumar（2000）中有描述。

2.3.3 单倍型多样性

单倍型是单倍体基因型的简称，表示作为遗传单元的 DNA 的独特性。因此，单倍体的线粒体 DNA 就是一个单倍型，因为它通常作为一个基因连锁群进行遗传。在二倍体基因组中，单倍型是指一组存在于同一染色体上紧密连锁的核苷酸序列。因此，单倍型是一组处于连锁不平衡的 DNA，其组合不受重组影响。

单倍型多样性定义为 $1-\Sigma f_i^2$，其中，f_i 是第 i 个单倍型的频率。这一条公式与显性标记计算期望杂合度的公式相同。

2.4 非中性标记和中性检验

上面所列举的指标，同样也可以应用到一些已经受到选择的遗传标记中。然而，研究者们需要注意的是，在这种情况下那些指标所表示的内容可能会大不相同。例如，一个位点上的基因频率受到选择效应的作用，那么，我们将不可能通过上述的指标推测种群的繁殖和迁移水平。尽管如此，根据中性和非中性位点结果的比对，我们或许可以提出其他有意义的推论。让我们用最近一个对濒临灭绝鸟类种群的研究作为例子，研究人员对生活在不同地理区域的两个斑腹沙锥（*Gallinago media*）种群中微卫星位点（中性）和与获得性免疫密切相关的主要组织相容性复合体 *Mhc* 基因（非中性）进行比对得到 F_{ST}（Ekblom et al. 2007）。结果表明，*Mhc* 基因在遗传分化中的差异度更强于微卫星标记，这可能说明斑腹沙锥的两个种群分别适应于当地局部的寄生生物区系。

目前已经有多篇文章介绍了一系列用来检测基因位点是否符合中性预期，亦或是受到选择影响的方法。首先也最基本的是，通过检测基因位点是否偏离哈迪-温伯格平衡，我们能够得出该位点是否为中性的结论。当然，如果这一位点同时也偏离了中性的期望值，那我们将得到不同于自然选择效应的另外的原因来解释它，但是无论怎样，这一个检测依然是首先要做的。

一个常用的检测序列数据的方法是计算非同义（d*N*）和同义替换（d*S*）的比率：d*N*/d*S*（或 k*N*/k*S*）。负选择（negative selection）会降低 d*N*/d*S* 的值，而多样化的正选择（positive selection）则会使这一比值变高。这能够检测基因或 DNA 是进化保守的（即低 d*N*/d*S*），亦或是相应的密码子被选择保留为比中性预期更多样化（高 d*N*/d*S*）。后者可能在免疫相关的基因中更常出现，因为免疫相关的基因常常受到频率制约的选择效应（见第 5 章）。

Tajima's D 是一个用于分辨DNA序列是中性选择进化亦或是非随机过程进化的统计检测。非随机过程进化包括定向和多样化的选择。这里需要注意的是，历史种群的扩大或缩小、基因组相邻基因的搭便车效应等，都有可能导致检测值偏离中性预期。

这一检测方法是建立在特定假设之上的，这一假设应该满足以下两个条件：一是研究位点在进化上保持中性，二是所研究的种群处于突变-漂变平衡的状态，其核苷酸多样性的期望值应满足 $E(\pi)=\theta_\pi=4N_\mu$（Kimura 1969）。核苷酸多样性的另一种测定方法基于一个无限位点模型，其中独立位点数 S 的期望值是 $E(S)=a\theta$，$a=(\Sigma^{n-1}-1/i)$。因此 $\theta_s = S/a$。如果序列是在中性条件下发生进化的，那么对于不同的 θ 应当得到相同的值。但是选择效应或者其他的非随机过程都将在不同程度上改变 S 和 π 的值。该检测方法中，计 $d=\theta_\pi-\theta_s$，则

$$D = d/[V(d)]^{1/2}$$

在净化（负）选择的状态下 D 趋于负值。但是，如果在平衡选择下，如种群具有杂种优势，则 $D>0$。正如之前所提到的，趋向于偏离中性期望得到的 θ 值的 D 值也受到多种种群结构的影响。

其他用于检测选择效应是否存在的检测方法，比如相关的 HKA（Hudson-Kreitman-Aguade）和 McDonald-Kreitman 检验，需要有来自至少两个不同物种的两组基因序列数据（Hedrick 2000）。因此，这些方法并不太适用于面临灭绝危险的物种，因为往往濒危物种的基因数据已经非常稀少了，并且并不一定能够找到明显的姊妹种用来比对。

2.5 基因数量变异

在这个全基因组测序普及的时代，人们很容易忘记那些用来研究量化遗传变异的传统方法。由于新理论的提出和软件的开发，数量遗传学在今天逐渐被越来越多的人提起。此外，数量遗传学和遗传研究工具的结合，正在为新的研究带来更多的可能性（第 7 章）。许多基因组学研究的最终目标是理解复杂性状背后的遗传基础，如形态、生活史变异及抗病/敏感性等。通过绘制与数量变异相关的基因组区域，以及将表型变异与基因组变异相联系等方法，我们能够对表型有更加全面的了解，如对当地环境变化的适应、抗病性和生活史变化（见第 7 章）。然而，远在发现目前遗传学研究基础的 DNA 分子之前，人们对数量变异性状的遗传基础研究早已开展。下面我将简单介绍与保育遗传学相关的数量遗传变异的理论。

在最简单的情况下，任何给定位点的所有等位基因对该位点表型决定有相同的贡献，这被称为基因的累加效应。但是，事实上另一种情况才是最常见的：某些等位基因会比所有等位基因对表型的平均贡献更多（或更少）。最简单的累加遗

传模型有如下的假设：①种群中所有个体的所有变异都是可遗传的；②等位基因的效应为累加性（与之相对的是基因的显性）；③忽略上位效应，即认为基因之间没有相互作用。从而我们可以通过对位点中所有等位基因加上基因型值 G，来算出所研究性状的表型值 P。例如，如果等位基因 1 的 G 值为 1，等位基因 2 的 G 值为 2，那么 P 的值就是 3。

在现实中，没有任何一个性状完全是由它的基因型值决定的，而是总会受到环境 E 的影响。因而有一个更加现实的模型表示为，表型值等于基因型值与环境影响值的总和（$P = G + E$）。此外，我们还需要考虑显性基因影响的存在（D）及各个位点之间的相互作用 I，因此基因型值 G 是由显性和上位基因共同作用的，即 $G = A + D + I$，其中，A 代表基因累加效应。综上，一个完整的数量遗传模型应该是 $P = A + D + I + E$（图 2.1）。

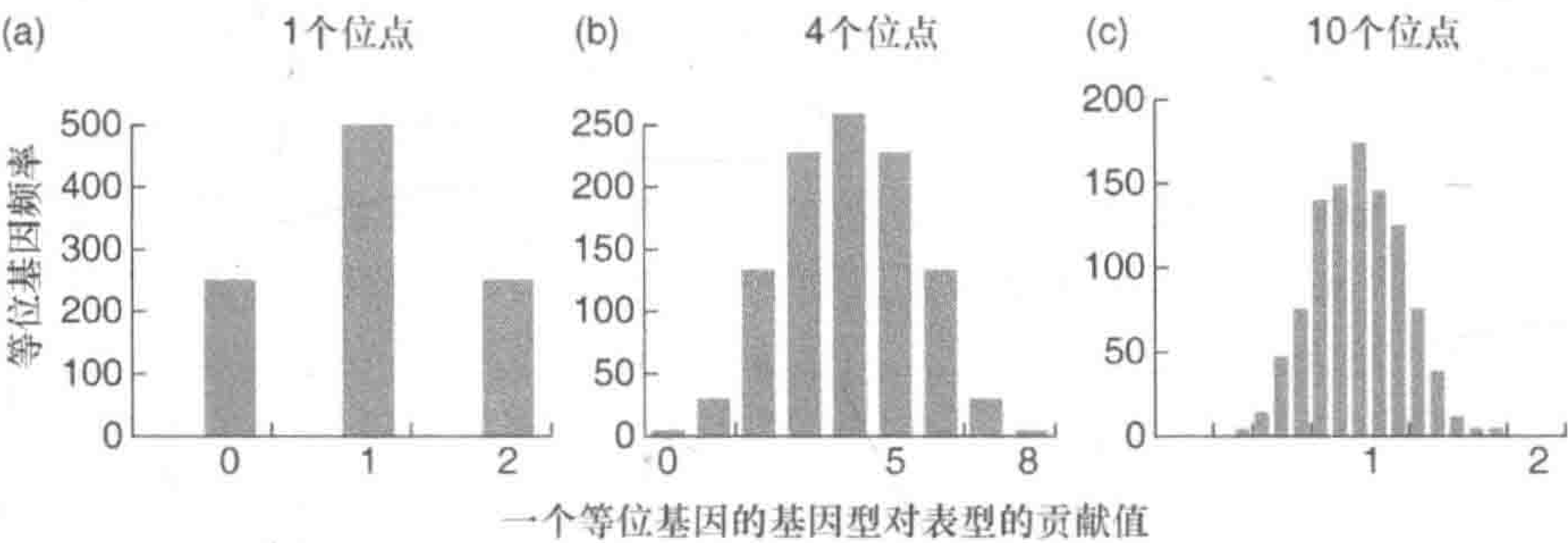


图 2.1 基于每个位点一对等位基因（4 对或者 10 对）的多基因遗传结果

一个等位基因对性状表达（基因型和表型）贡献 1，另一个贡献 0。等位基因频率每个位点为 0.5。性状表达只受基因影响

人们常常说，数量遗传学关注的是受多基因影响的复杂性状分析。而多基因遗传是迄今为止对于任何实际的性状中最常见的情况，上面提到的例子应该已经很明显地表达出，最简单的数量遗传情况仅仅发生在单个位点上，这种遗传模式和所谓的“孟德尔性状”没有什么不同。如果在 P 上的环境影响较小，并且仅有一个位点受到影响，那么该表型分布将和图 2.1（a）接近。图 2.1（b）和 2.1（c）表示有多个位点受到影响时的表型分布情况。可见，越多位点受到影响时，表型分布曲线越接近于钟形。

正如一个性状的表型值可以被划分为可加性的部分、显性的部分和环境影响组成一样，一个种群中同一性状的变异可以如下进行划分：

$$V_P = V_G + V_E = V_A + V_D + V_I + V_E$$

这里需要重点说明的是，V_A 是保护研究的重要组成部分（以及在任何演化理论应用时的重要组成部分），因为这是唯一一个从亲代继承且对选择效应有响应的

组分。虽说事实上生物个体会从其亲本继承给定位点的显性性状，因为亲本任何位点的等位基因都会被遗传下来，但任何个体都无法遗传亲本相应位点的显性偏差和上位效应。因此，V_D 和 V_I 表现了孟德尔效应影响的部分，V_A 则是进化的关键部分。

我们定义遗传力（heritability）为 $h^2 = V_A/V_P$，表示为性状变异的比例，受到基因加性作用的影响。或者我们用另一种方式表示，它是受选择作用的可遗传变异所占的比例大小（见下文）。这是一个种群特有的动态属性，并在物种进化过程中不断改变。例如，在环境引起的变异数很高的情况下，该种群的遗传力将较小。

估计自然种群的遗传力常常通过亲代-子代回归或者子代分析等方法进行。对于亲代-子代回归，我们是用后代给定性状的数值相对于亲代性状数值进行回归分析（图 2.2）。遗传力即为这一回归曲线的斜率。将这一斜率根据不同类型的比对与每一代种群个体概率的倒数相乘，即可求得遗传力的数值。例如，对于单亲后代，乘以回归的斜率得到 h^2=2。

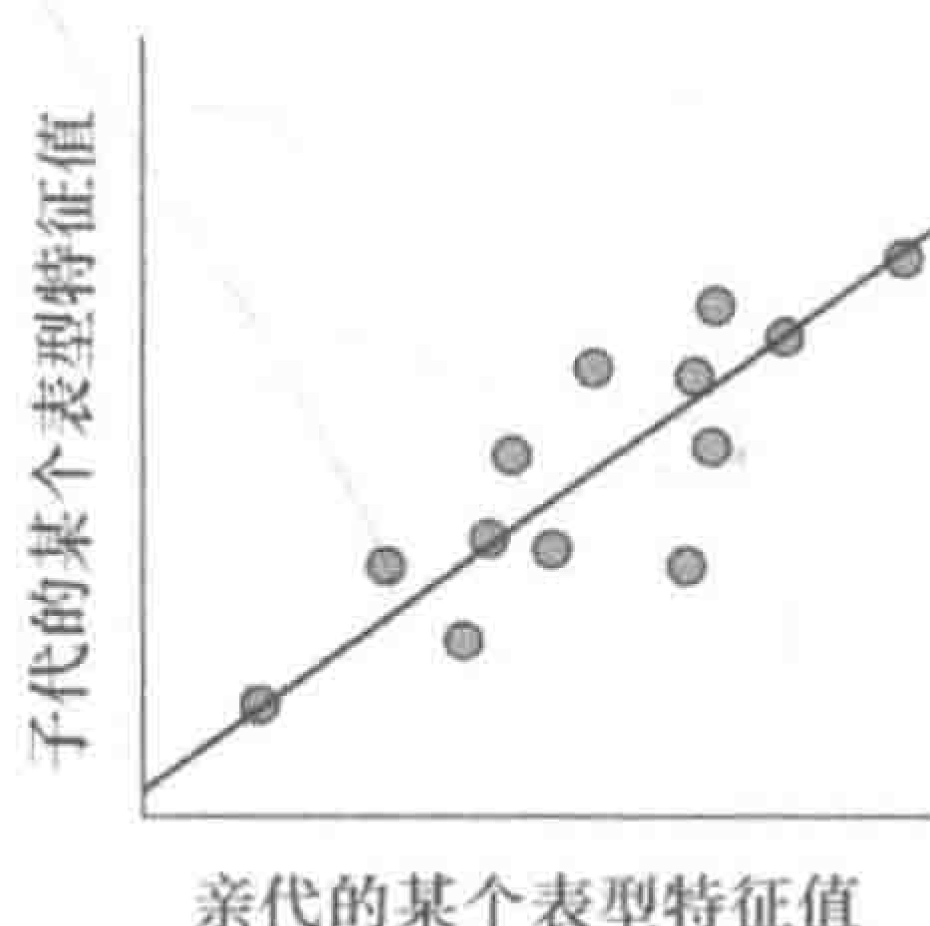


图 2.2　基于亲本-子代回归假设的性状的遗传力

在某些情况下，借助回归等统计方法来估算种群遗传力是很难实现甚至不可能的。这时，最好的方法是借助实验室设计的半同胞家系来估计 h^2。这样的设计能够得到多个遗传力的估计值，并能够对一些模糊的部分，如母体效应的影响水平进行估算。此外，对于一些很难在亲代或子代直接检测相应性状数值的情况，如当子代还没有完全发育时，这种方法是测量遗传力的唯一选择。

对于同胞家系的构建有一些技术和方法。例如，在一个称为“北卡罗莱纳设计 1（North-Carolina Design 1）”的实验中，雄性（公畜）个体分别与若干雌性（母畜）交配，它们的后代在被抚养后进行检测，并对检测结果进行方差分析（ANOVA）来估计变化组分（表 2.2）。这种方法能够得出三个不同的遗传率：h^2_s、h^2_d 和 h^2_{s+d}。后两者同时包含显性效应和母本效应，而前者不包含显性效应（见表格中的定义和详细信息）。通过比对的方式我们也可以估算出显性效应的值。

脊椎动物的形态性状的遗传力范围通常为 0.3～0.8。遗传力的理论上限为 1（即种群性状变异完全由可加性效应决定）。野生脊椎动物种群的生活史性状的遗

表 2.2 为估算遗传力而设计的半同胞的案例。其中，下标 as 表示雄性祖先，ad 表示雌性祖先，ap 表示子孙（根据 Falconer and Mackay 1996 修改）

观察到的组分	协方差和估算的组分	
父系	$V_{as}=\mathrm{Cov}_{(半胞)}$	$=1/4V_a$
母系	$V_{ad}=\mathrm{Cov}_{(全胞)}-\mathrm{Cov}_{(半胞)}$	$=1/4V_a+1/4V_d+V_{ec}$
子代	$V_{ap}=V_p-\mathrm{Cov}_{(全胞)}$	$=1/2V_a+3/4V_d+V_{ew}$
综合	$V_T=V_p$	$=V_a+V_d+V_{ec}+V_{ew}$
父系+母系	$V_{as}+V_{ad}=\mathrm{Cov}_{(全胞)}$	$=1/2V_a+1/4V_d+V_{ec}$
对于 h^2 的三种估计方法		
$h_s^2=4V_{as}/V_{as}+V_{ab}+V_{ap}$	没有显性作用	
$h_d^2=4V_{ad}/V_{as}+V_{ab}+V_{ap}$	具有显性作用和母体效应	
$h^2_{s+d}=2(V_{as}+V_{ad})/V_{as}+V_{ad}+V_{ap}$	具有显性作用和母体效应	

传力通常低于 0.4（Gustafsson 1986）。同样的差异在无脊椎动物种群中也一样存在（Houle 1992）。这种差异一部分可以通过在性状选择的进化动力学上被称为 Fisher 自然选择的基本定理来解释，这一基本定理由 Ronald Fisher 爵士首先提出（Fisher 1930）。要理解这个定理，我们首先需要对数量遗传机制下的自然选择有一定的认识。

试想一下，一个种群受到一定选择效应的作用，而在这个选择效应作用前后我们都对这个种群的各项数据进行了检测。这一选择效应作用可以是对种群个体生存与否的选择，或是种群繁殖分化的过程。重要的是，这一选择作用直接导致那些未被选择的个体无法将自己的遗传信息传递给下一代。那么，选择分化值 $S=\mu_1-\mu$，其中，μ_1 是选择效应作用后种群个体平均数；μ 表示作用前的均值（图 2.3）。

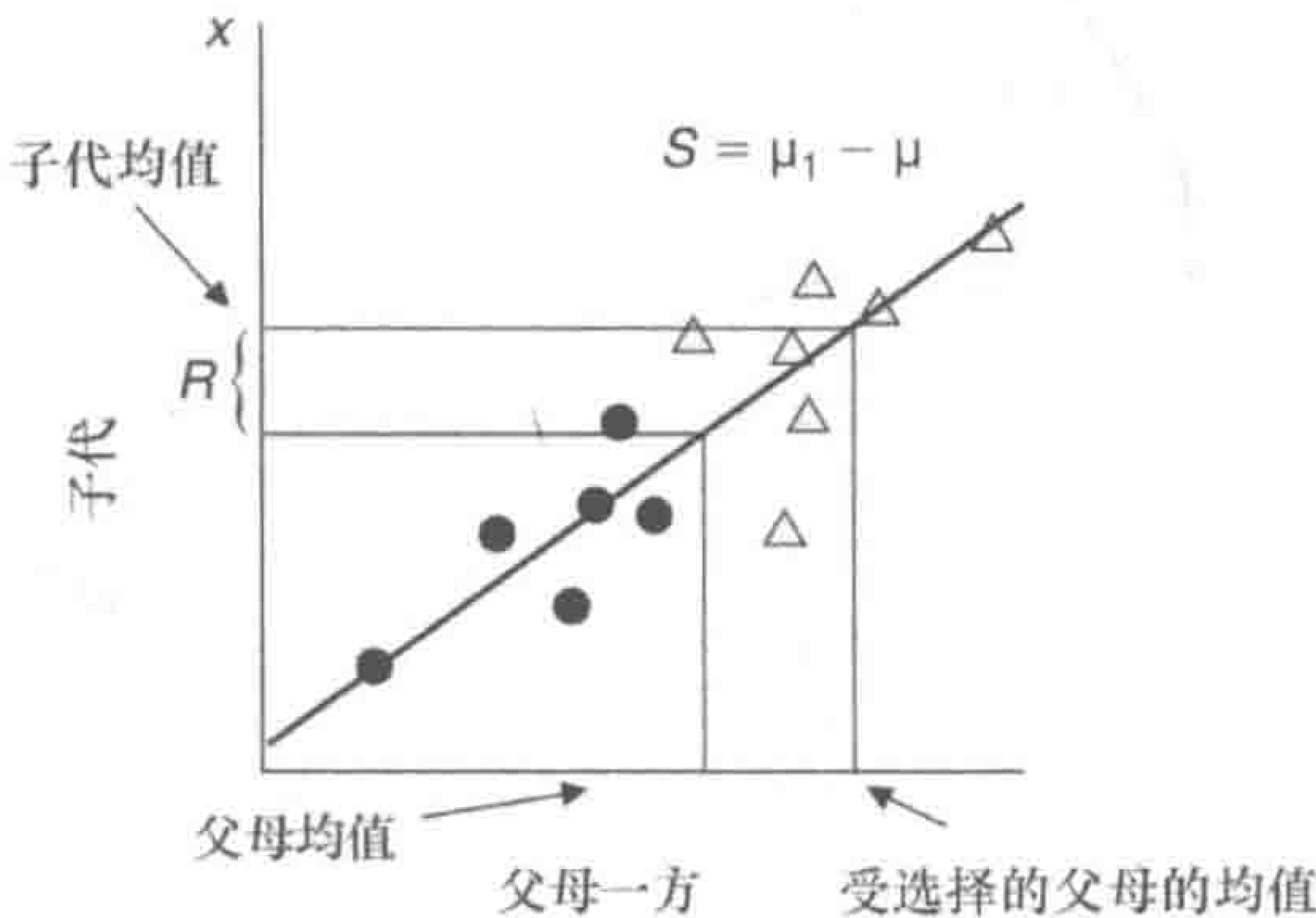


图 2.3 繁殖者方程及自然选择微进化响应示意图

S 是选择差数（在 μ 前和 μ_1 之后的自然选择的平均值差异），R 是下一代中对自然选择的响应

现在，我们考虑种群对选择作用有一个进化上的响应，即下一代的均值要发

生变化的话，需要满足两个条件。第一，这一种群需要有加性遗传变异 V_A，换句话说我们需要显著 h^2。第二，我们需要显著的选择效应。h^2 和 S 的值越大，种群对选择的响应越强。这可以通过种群对选择的响应 R 来表示，其意义等同于遗传力和选择效应的综合，即

$$R = h^2S$$

这就是著名的繁育者方程（breeder's equation），如图 2.3 所示。对于野外种群，有大量关于自然选择和微进化响应的研究综述。其中最有名的例子是达尔文地雀不同长度的喙，其形成机制在于气候条件导致地雀获得不同种子的成功率不同，从而引起不同程度的选择压力而产生的微进化响应（Grant and Grant 1989）。

上面提到的理论是忽略了上位效应和基因多效性（遗传相关性）的单变量情况。当性状互相存在关联时，这一理论将变得更加复杂。回想一下前面提到的 $h^2 = V_A/V_P$，这条公式也可以被写为

$$R = (V_a/V_p)S$$

当性状遗传相关时，种群对选择的响应可被描述为

$$\boldsymbol{\Delta Z} = \beta \boldsymbol{G}$$

这里使用的粗体字表示我们所使用的是矩阵，而 $\boldsymbol{G}$ 代表的是加性遗传方差-协方差矩阵，描述所研究的任何性状之间所有的遗传变异和协方差（相关性）。β 是描述在每个性状选择的定向选择梯度。β 也可以写成 $\beta=\boldsymbol{S}/\boldsymbol{P}$，其中 $\boldsymbol{S}$ 是每个性状上的选择梯度向量，$\boldsymbol{P}$ 是表型方差-协方差矩阵。从而有

$$\boldsymbol{\Delta Z} = (\boldsymbol{S}/\boldsymbol{P})\boldsymbol{G} = \boldsymbol{G}\boldsymbol{P}^{-1}\boldsymbol{S}$$

表面上看，按照单变量的情况，种群对选择的响应等同于加性遗传方差（和协方差）的比值与选择分化值的乘积。

Fisher 在提出他的基本定理时曾说过“在任何时间，任何生物体适合度的增长率，均与其适合度的遗传变异相同”（Fisher，1930）。这就是说，进化响应取决于遗传力。用现代术语来表达这一定理就是：在任何时间，任何生物体受到自然选择改变其基因频率产生的平均适合度增长率，与该生物体当时适应的基因变异相同。

Maynard Smith（1998）曾经对这一定理进行证明。回想一下前面提到的 $R = h^2S$ 和 $S = \mu_1 - \mu$。所研究性状的适合度即含选择分化加权值的适合度

$$S = \sum k（\mu_1 - \mu）/N$$

其中，k 为单一亲本对应的子代个数，$N = \sum k$，即后代的总数。单一亲本的子代个数即是该亲本的适合度 W。而含选择分化加权的适合度为

$$\begin{aligned} S &= \sum W_i（W_i - \text{mean } W）/N \\ &= \sum W_i^2/N - \sum（W/N）\text{mean } W \\ &= \text{mean } W_i^2 - (\text{mean } W)^2 = V_{Pw}（按照方差的定义） \end{aligned}$$

代入繁殖者方程，我们得到

$$R_{\mathrm{w}} = h^2 V_{\mathrm{Pw}} = (V_{\mathrm{Aw}}/V_{\mathrm{Pw}})V_{\mathrm{Pw}} = V_{\mathrm{Aw}}$$

这就是我们需要证明的。

举个例子我们就能明白上面讨论的内容。我们可以假设在一个位点上有以下的三种基因型的适合度：$w(\mathrm{AA})=1$，$w(\mathrm{Aa})= 0.6$，$w(\mathrm{aa})= 0.3$。A 的初始频率很低，比方说 0.01。那么，这个种群的平均适合度就接近 0.3。现在，当 A 等位基因频率由于选择优势逐渐上升，种群的平均适合度也将相应地上升（图 2.4）。如果我们观察几代，会发现种群的平均适合度和 A 的等位基因频率都将以 S 形的方式增加，并最终在该种群中稳定。由此可以看出，最初在种群中的遗传力是非常低的，因为最初几乎所有个体都是 aa 基因型，因此种群中只有非常小的加性遗传变异。当群体遗传力随着等位基因频率增大而增大，达到峰值 $p=q= 0.5$ 时，平均适合度为 0.6。而当 A 等位基因比 a 具有更高的基因频率时，加性遗传变异开始下降，遗传力也相应下降。

上面的论证和举例说明了很重要的一点，那就是遗传力是随性状的进化动力学改变而改变的动态属性。此外，它也表明与适合度密切相关的性状将很快变得稳定，且其遗传力接近于 0。一个性状与适合度的关联越大，其遗传力将越小。这就是为什么生活史性状比形态性状遗传力低的一个原因。经常在自然种群中检测的生活史性状包括产卵或断奶时间、孵卵数或产仔数、寿命等。这些性状比许多形态性状表现更多的种群适合度变化（生命周期繁殖率，Gustafsson 1988）。当然，也会存在一些例外，形态性状在种群适合度变化上表现更多（例如，Merilä and Sheldon 2000）。但是，这些情况下的性状都被认为是具有低遗传力的性状。

对于某些性状的遗传力低的另一种解释是，性状对环境变化的敏感程度不同。Houle（1992）测量了果蝇的两种形态性状和两种生活史性状。根据前面提到过的理论，他测得果蝇侧鬃数量和翼长的数据，结果显示了这两个性状具有比较高的遗传力，分别为 0.44 和 0.36；而繁殖力和寿命这两个生活史性状的遗传力则很低，分别为 0.06 和 0.11。然而，Houle 为每个性状单独地计算了 V_{A}，并计算出一个他称之为进化力（evolvability）的值。进化力被定义为 $CV_{\mathrm{A}}=100（V_{\mathrm{A}}）^{1/2}/P$，其中，$P$ 是性状的平均表型值。鬃毛数量、繁殖力和寿命的进化力都较高（大约为 10），而翼长的进化力则较低（1.56）。这意味着生活史性状遗传力低是由于高的 V_{E} 值。假如这一个属性值降低了，那么这一性状应该具有足够的加性遗传方差 V_{A}，来使这些性状能够对选择作出响应。

正如前面我们提到的，濒危的物种种群预期会比那些数量庞大的物种种群表现出更多的亚种群。基于遗传数据，我们可以通过计算 F_{ST} 来估算其群体分化。在前面我们也讲述了 F_{ST} 的一个通用公式，$F_{\mathrm{ST}}=（H_{\mathrm{T}}-H_{\mathrm{S}}）/H_{\mathrm{T}}$（Nei 1975）。另一种表达方法是

$$F_{\mathrm{ST}}=V_{\mathrm{a}}/(V_{\mathrm{a}}+V_{\mathrm{b}}+V_{\mathrm{w}})$$

其中，V_a是样本的遗传方差；V_b是样本内个别间差异；V_w是个体内的差异（Weir and Cockerham 1984）。 Wright（1951）表明，数量遗传数据

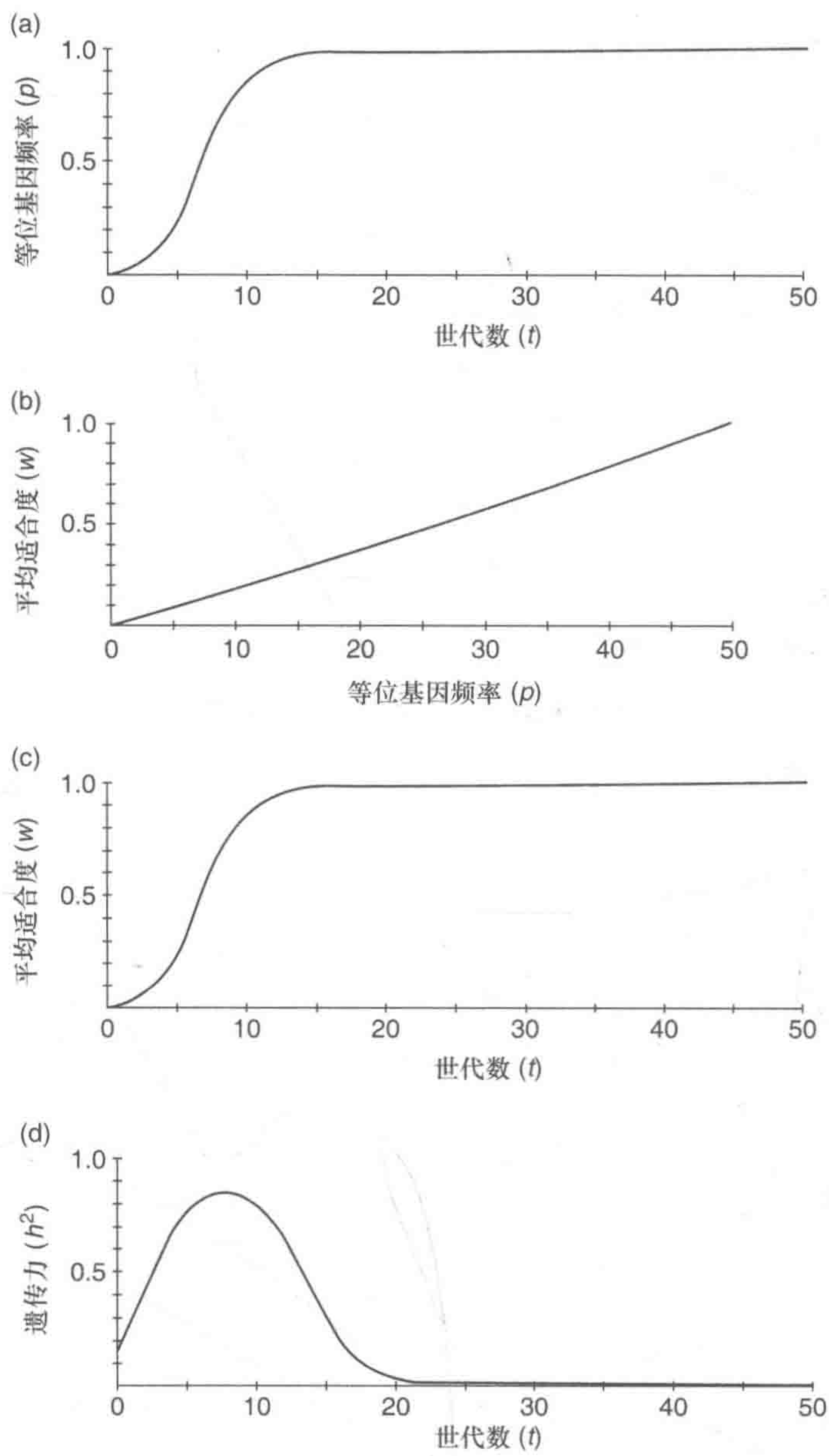


图 2-4 费雪自然选择基本定理的示意图

(a) 等位基因频率的变化对于自然选择的响应；(b) 平均适合度受等位基因频率影响的变化；(c) 平均适合度；(d) 遗传力的变化受到世代数的影响。这些图显示为什么与适合度相关的性状具有很低或者等于零的遗传力

$$Q_{ST} = V_{gb}/(V_{gb} + 2V_{gw})$$

其中，V_{gb} 是种群中的加性遗传变异；V_{gw} 是种群内的加性遗传变异。因此，种群分化也可以用于计算数量遗传数据（见第 6 章）。

应用时 Q_{ST} 可以按下面的方式算得

$$Q_{ST} = (g)V_{pop} / (g)V_{pop} + 2(h^2)V_{err}$$

其中，方差分量可以从标准单因素方差分析获得。这里的 g 是假定由于加性效应导致种群间差异的比例；V_{pop} 是种群引起的表型差异；h^2 是群体内性状的遗传力；V_{err} 是表型误差方差（Lande 1992；Spitze 1993）。

2.6　结　　论

本章是对保护遗传学中最常见的研究遗传变异的技术和统计方法的一个综述。所列举的所有基因表达水平的技术中，从数量遗传学基础、等位酶、各种遗传标记如 AFLP 和微卫星，到 DNA 测序技术都有囊括。而在第 7 章我会对保护遗传学研究有关的基因组研究方法应用做一个综述。

3　近亲繁殖、群体地理结构和基因流

基因频率偏离哈迪–温伯格平衡预期的主要原因之一是近亲繁殖。下面我将概述近亲繁殖的理论，包括对群体分化和基因流的理论进行简单的介绍。这些都和保护生物学的问题有关，因为生境破碎化和栖息地的丧失导致剩余的栖息地片段之间的物种迁移减少，从而改变濒危物种的群体遗传结构。群体遗传结构引起近亲繁殖的主要原因。在本章后面，我们将一起探讨遗传多样性和适合度的关系，以及在这种情况下的近交衰退和杂种优势。

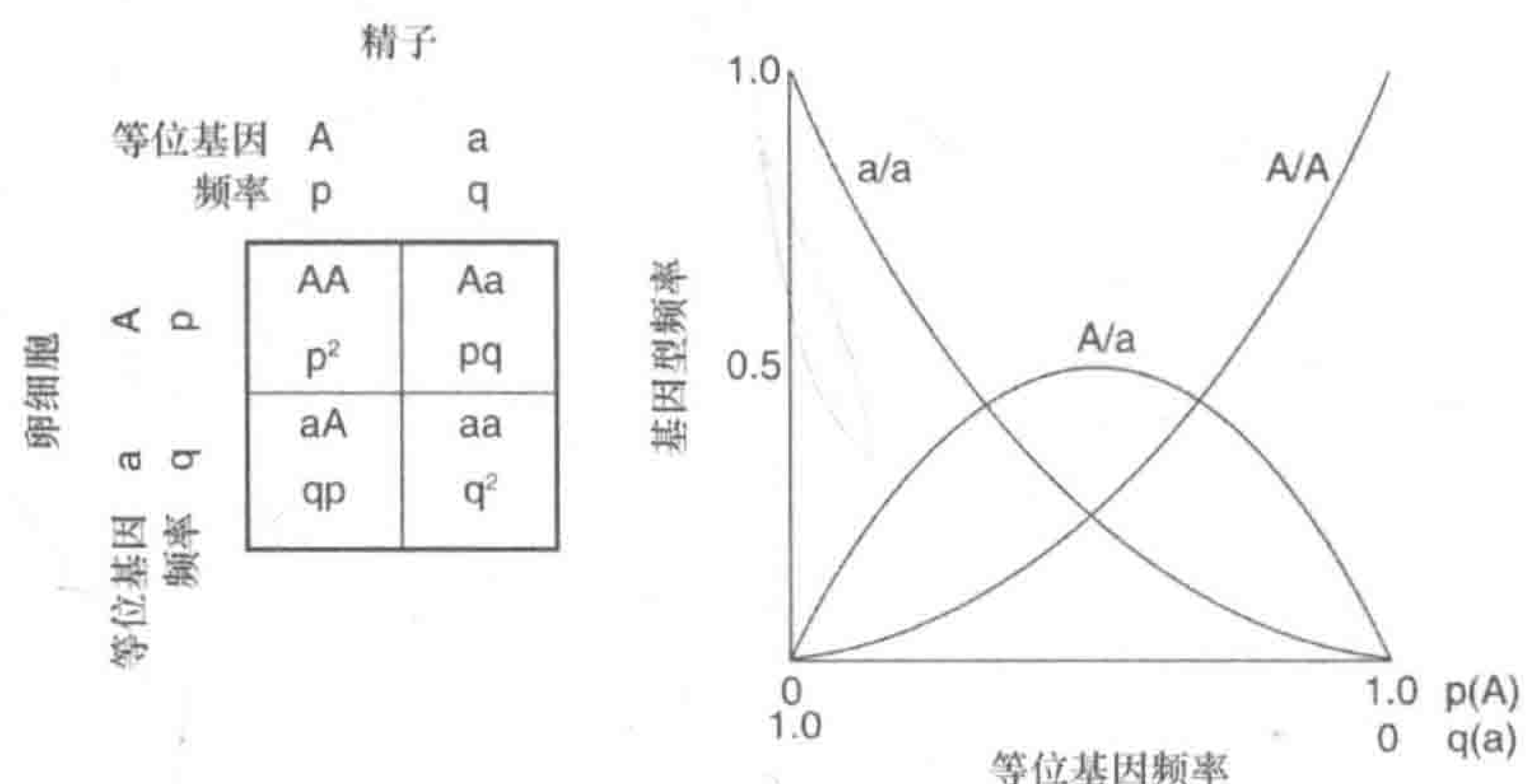
3.1　群体内近亲繁殖

在了解影响自然群体等位基因频率的过程及其对群体结构的影响时，从“理想群体”这一概念出发可能有助于我们的理解（Wright 1931，1938）。Wright 定义理想群体为“理想群体中的繁殖个体数将表现出与随机遗传漂变下等位基因频率分布情况相同，或与所研究群体近亲繁殖数相同”。在理想群体中，交配被假定为随机的，因此，所有的亲本个体都有同等概率成为任何子代的父母。关于这一点人们时有争论，认为既然自然中没有群体是随机交配的，那么这一个理想群体的理论就没有实际意义。然而，这种观点忽略了一点，那就是理想群体的概念恰恰定义了一个可用于比较的必要标准。正如我们在第 1 章已经看到的，小群体将经历越来越快的遗传变异丢失，这在保护生物学领域是受到高度关注的内容。保护生物学所真正关注的，是一个叫作有效群体大小（N_e）的变量，其定义为随机交配情况下预期的群体大小（即理想化群体大小，Kimura and Crow 1963），而不是我们所调查统计到的群体大小（N）。

哈迪–温伯格平衡模型可用来预测等位基因频率在二倍体群体中如何受到交配和减数分裂的影响。在二倍体减数分裂的过程中，单倍体配子由二倍体个体产生，随后交配结合产生新的二倍体个体。因此，我们能够通过等位基因频率计算基因型频率；反之亦然。这可以使用众所周知的旁氏表（Punnett square），又称棋盘法。一代随机交配后，在孟德尔分离定律不改变等位基因频率的情况下，任何群体都将达到一个平衡（专栏 3.1）。

专栏 3.1 哈迪-温伯格平衡模型

在二倍体生物中，单倍体配子在减数分裂和产生新二倍体个体的期间形成。因此，从受精卵的基因型频率中计算配子中的等位基因频率是有效的（反之亦然）。



上图受到了旁氏表的启发。对于给定的双等位基因，AA 的频率是 $P'=p^2$，Aa 的频率是 $H'=pq+qp=2pq$，aa 的频率是 $Q'=q^2$。方程如下：

$$p'=P'+H'/2$$
$$=p^2+2(pq)/2$$
$$=p^2+pq$$
$$=p(p+q)\ (\text{and since } p+q=1)$$
$$=p$$

这展示了在一代符合孟德尔分离法则的随机交配后，等位基因频率不会改变。

如上所述，非随机交配将偏离哈迪–温伯格平衡。有两个过程会导致这样的结果：选型交配和近亲繁殖。选型交配，当类似的个体倾向于相互交配时，将只会影响交配的基因位点，并只改变该位点的纯合性。例如，如果由同一位点的两个不同等位基因共同控制花朵的颜色差异，若群体更倾向于只与相同花朵颜色个体交配，则该位点的杂合度将低于随机交配的预期值。相反，如果有异型交配和非选型交配（更倾向于与不同性状个体交配），影响该性状的基因位点的杂合度将会提高。这可能适用于一些主要组织相容性复合体位点（*Mhc* 基因），因为我们常常能观察到这些位点有异型交配情况的存在（Milinski 2006）。这也许就是为什么 *Mhc* 基因多态性在很多群体中都普遍存（Piertney and Oliver 2006；见第 5 章）。

不同于选型（或非选型）交配，近亲繁殖影响的是全基因组水平的纯合性。近亲繁殖是指群体中两个亲缘关系更近的个体间的交配。近交系数 F，描述了两个等位基因具有相同血统的概率。也就是说，两者都是从共同祖先一个特定的等位基因复制并遗传下来的。近交系数是通过从群体中随机挑选两个等位基因计算

得到的。挑选第一个等位基因后，我们就能得到第二个基因与第一个基因相同的概率 f。例如，如果第一个等位基因为 A 的概率为 p，则第二个等位基因为 A（具有相同血统）的概率就是 f。那么，这两个等位基因是相同的血统（IBD）的概率是

$$P_{\mathrm{IBD}} = pf$$

与相同血统类似的，我们也可以定义两个等位基因具有相同状态（IBS），亦即等位基因相同，但它们并不具有从同一祖先遗传下来的状态，即

$$P_{\mathrm{IBD}} = p^2(1-f)$$

其中，p^2 是挑出相同等位基因的概率；$(1-f)$表示两个等位基因不同血统的概率。

因此，AA 基因型的频率是

$$P = P_{\mathrm{IBD}} + P_{\mathrm{IBS}} = pf{+}p^2(1-f)$$

对于某些代数式中有 $p = 1-q$，我们得到

$$P = p^2{+}fpq$$

在一般情况下，它可以写成

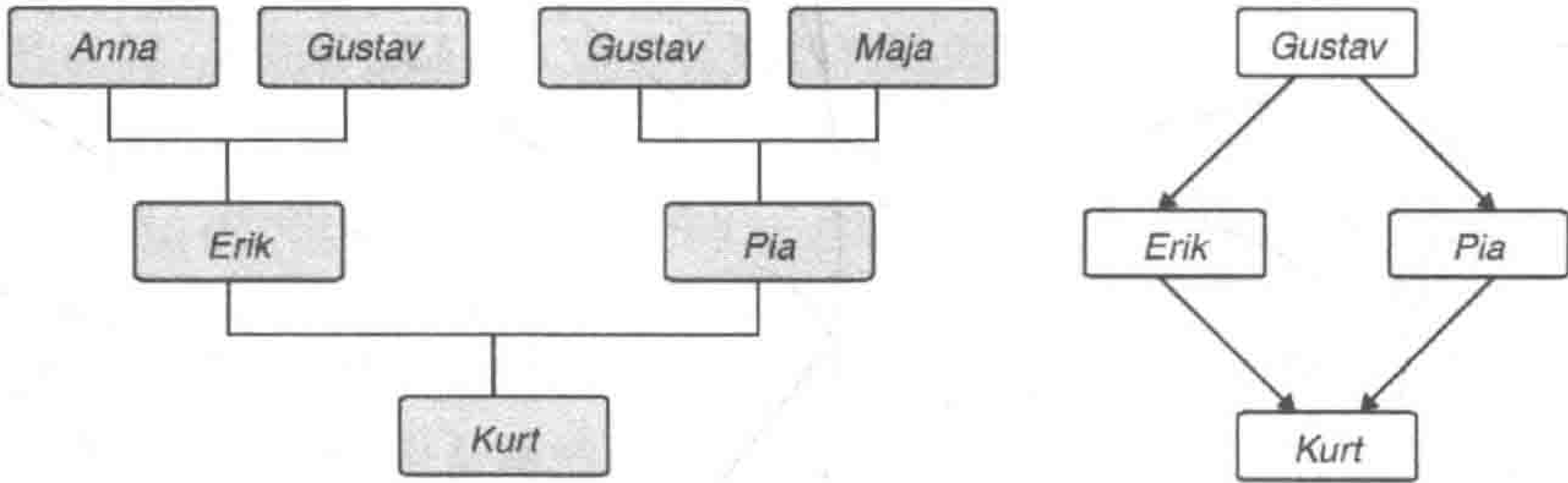
$$P = p^2{+}fpq$$
$$H = 2pq - 2fpq$$
$$Q = q^2{+}fpq$$

其中，等号后的第一个变量是哈迪–温伯格平衡期望的原形，第二个变量描述了哈迪–温伯格平衡的偏差，作为近亲繁殖的结果。它遵循这样的规律：若 f 趋近于 1（完全近亲繁殖），那么杂合度 H 则趋近于 0。因此我们得到，近亲繁殖将降低杂合度。

个体的近亲繁殖系数可以从家系推算得到（Wright 1969；Malecot 1948）。Wright 的方法包括路径分析，由此就可推算在一个家系内的个体纯合度比率，因为祖先对遗传谱系两边的遗传情况相同（专栏 3.2）。

专栏 3.2　谱系和路径分析

我们想要估计 Wright 的近交系数 f，即在谱系中给定位点的两个等位基因的概率。考虑下面谱系的例子。Gustav 陛下有两位皇后的后代：Anna 皇后的儿子 Erik 及 Maja 皇后的女儿 Pia。Pia 和 Erik 有一个儿子 Kurt。求 Kurt 的近交系数是多少？



为了简化问题，我们可以只看共同祖先。考虑 Gustav 的一个基因座上的两个不同的等位基因 a1 和 a2。任何一个传递给 Erik 的等位基因都有 50%的概率传递给 Kurt。与此同时，相同的等位基因也有 50%的机会通过 Gustav 传递给 Pia，如果 Pia 拥有它，则有 50%的机会通过 Pia 传递给 Kurt。Kurt 来自共同祖父的 a1、a2 的纯合子的总概率为 0.5×0.5×0.5 = 0.125（12.5%）。

Wright 开发了计算谱系近交系数的遗传路径分析方法（Wright 1969）。确定了从 Kurt 到共同祖先 Gustav 再从谱系的另一半返回的路径（Kurt-Erik-Gustav-Pia-Kurt），计算了在路径中排除 Kurt 的个体数（有 3 个：Erik、Gustav、Pia），然后计算了 1/2 关于 n 的乘方（n 是祖先的个数）。这就是

$(1/2)^3$ 或（1/2×1/2×1/2）= 1/8 = 12.5%（和之前的一样）

假设增加一代，Kurt 的曾祖父是共同祖先。这使得谱系每侧增加了一个个体：

$$f=(1/2)^5= 1/32 = 3.125\%$$

在这个案例中，每个封闭路径计算了多个共同祖先的贡献，概率是它们的总和。举一个表兄弟姐妹作为例子（有两个共同的曾祖父母）：

$$f=(1/2)^5 + (1/2)^5= 1/32 + 1/32 = 6.25\%$$

它通常假定共同祖先的近交系数 $f = 0$。然而，有时共同祖先的 f 是已知的。在这种情况下，f 会被加到总概率。例如，如果 Gustav 是近亲交配的产物，Kurt 的 f 值是：

$$f\times(1+f_A)= 0.125\times 1.0625 = 0.133 = 13\%$$

其中，f_A 是 Gustav 的近交系数。

总的来说：

$$f = \sum_{i=1}^{N}(1/2)^{n-1}\times(1+f_A)$$

其中，n 是封闭路径中个体数；N 是封闭路径中所有共同祖先集合（Wright 1969）。

在野生动植物保育研究中，尽管一些领域的研究已经能够通过观察或通过遗传标记间接来推断谱系，但谱系数据依然是难以获得的（Laikre et al. 1997；Kruuk et al. 2002）。而在圈养群体，如在动物园和植物园群体中，常常会有细致的物种家庭谱系（以下简称谱系）的记录，并通过尽量不交配近亲个体来避免近亲繁殖。

因为谱系数据难以在野外收集，研究人员往往借助间接的方法来估计野外群体的近亲繁殖水平。一个典型的例子是通过观察到的数据偏离哈迪–温伯格平衡预期的情况来推断近亲繁殖的程度。在任何群体中，近交水平 F 都与杂合度水平相关，即

$$F=(H_0-H)/H_0$$

其中，H_0 是哈迪–温伯格平衡预期杂合度（零假设）；H 是在群体中实际观察到的

水平。这条公式常常写成

$$F_{IS}=(H_e-H_0)/H_e$$

其中，H_e 是哈迪–温伯格平衡的预期杂合度；H_0 是所观察到的杂合度水平（见下文）。

在我自己的研究组对瑞典西海岸群岛的当地濒危物种黄条背蟾蜍（*Bufo colamita*）的研究中，我们测定了不同的岛屿群体间的微卫星位点的 F_{IS}。我们观察到的等位基因频率偏离哈迪–温伯格平衡预期，因此 F_{IS} 在 5 个群体中为正值，其中 3 个群体的标准误差很大，两个群体与没有近亲繁殖情况下的预期值有显著差异（Rogell 2005）。有 3 个群体没有偏离随机交配的零假设（图 3.1）。但是，如果我们就此断定近亲繁殖就是引起 F_{IS} 观察值提高的原因的话还为时尚早（虽然这也是一个可能的解释）。我们需要先排除一些方法上的问题才能得到这样的结论。其中一个对所观察到结论的解释是，可能在某些位点上存在所谓的无效等位基因（null allele）。无效等位基因是指那些没有在 PCR 反应中扩增的基因片段，PCR 用于扩增以便进行分析所研究的基因位点。如果这种等位基因在某些群体中更加普遍存在，或许就可以解释所观察到的纯合度增加，因而我们错误地估算了其他群体的 F_{IS}。

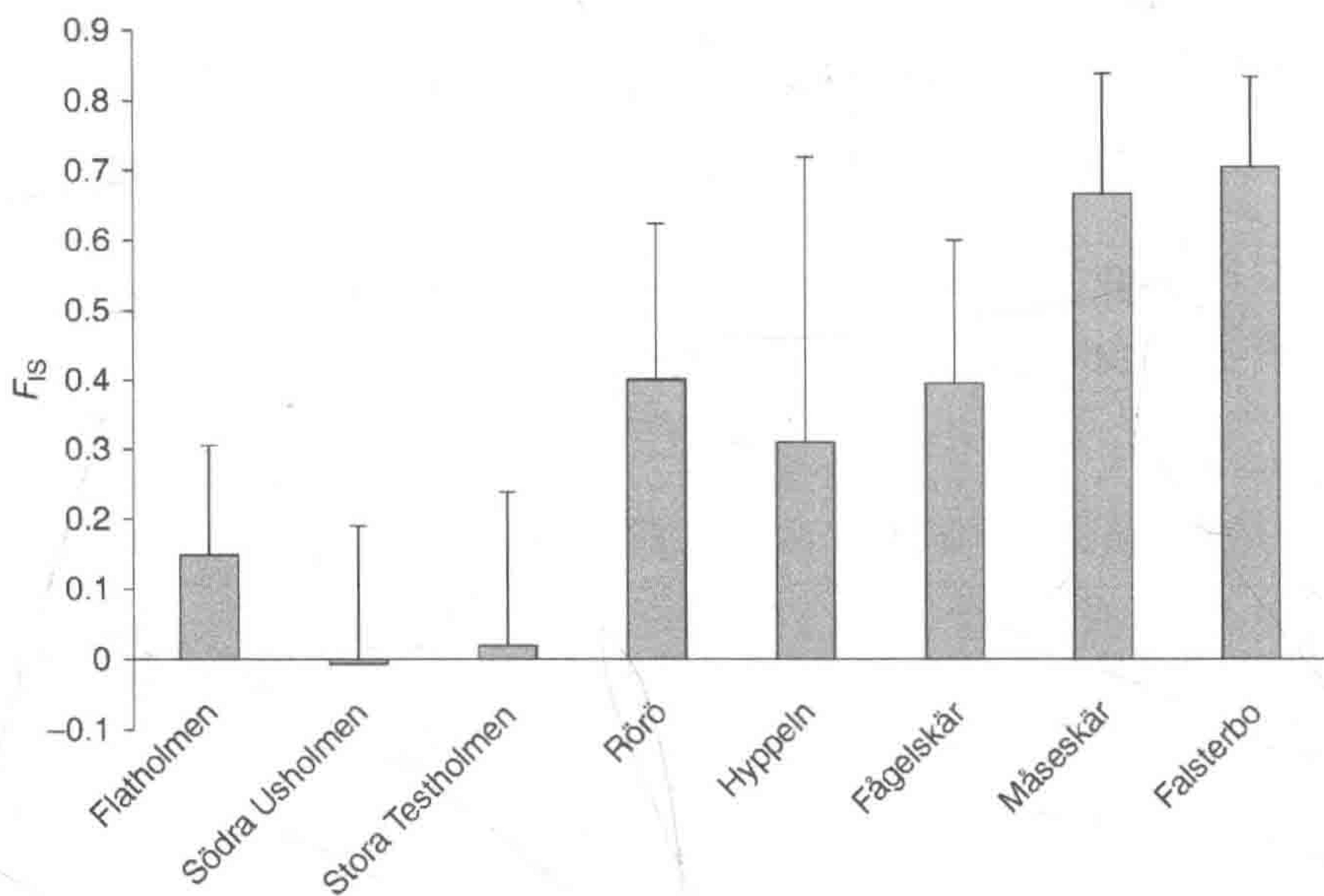


图 3.1 在瑞典西海岸附近岛屿上黄条蟾蜍亚种（Rogell 2005）的平均近交系数 F_{IS}（±1 SD）

纵坐标为群体内平均近交系数；横坐标为瑞典西海岸 8 个不同地点

理论上，近亲繁殖的水平在有限大小的封闭群体中预期是上升的（图 3.2）。正如前面说过的，近交系数是在一个基因位点上两个等位基因来自相同家系的概率。这也可以解释为，在上一代两个不同的个体，两个等位基因是相同家系的概

率。F=0 表示没有近亲繁殖；F=1 表示完全近亲繁殖，并且所有个体的基因相似。在一个封闭的群体中（无迁入迁出），如果我们忽略突变（因为基因突变概率较低，且在小群体中几乎不存在），F 将随时间逐渐提高。这是因为遗传漂变会造成一些等位基因的消失和另一些基因的固定。其结果是，在以后的世代个体更可能携带相同于祖先等位基因的拷贝片段。

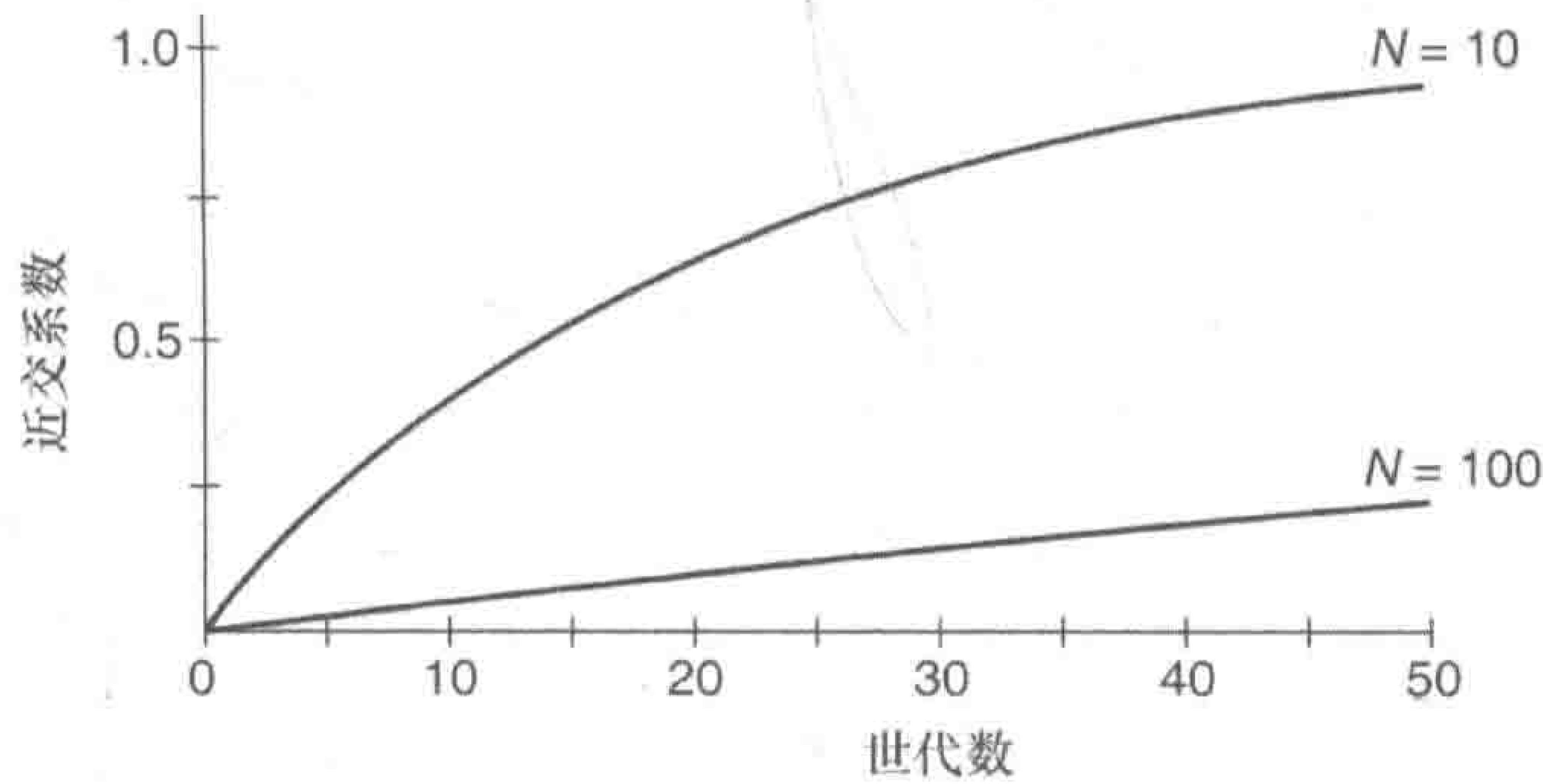


图 3.2　在各种大小的假设相近群体中与时间相关（世代，横坐标）的近亲交配近亲交配系数（纵坐标）在小型群体中比大型群体中增长更快

近亲繁殖随着时间而增加的速率是

$$F=1-[1-(1/2N)]^t$$

其中，F 是近交系数；N 是群体大小；t 是世代数。由于遗传漂变是主要的影响因素且是一个随机过程，因此群体总是存在围绕预期值的随机波动变化。我们从等式也可以看出，当 N 较小时，近亲繁殖的增加速度上升更快（参见图 3.2）。

由此可见，在封闭的群体中，即使群体个体是随机交配的，随着时间的推移，近亲繁殖水平依然会增加。然而，真正的群体往往是分层为不同规模的家系群体。在这样的分层群体中，有研究已经指出，当群体较小时，个体与同家系个体（近亲）交配的概率会增大（Cavalli-Sforza et al. 2004)。这一结果是基于家系数量是一个有限群体的事实，当群体较小时，家系群体内将更快地共享其共同祖先。

通过自然群体遗传变异水平尝试估算近亲繁殖的程度的例子不胜枚举。下面的例子来自我自己的研究小组对欧洲西部的黑琴鸡（*Tetrao tetrix*）的研究。黑琴鸡是适应于针叶森林栖息地和开放高沼泽地交错带的一种留居鸟种。它的繁殖范围从欧洲的英国到亚洲的中国和韩国边界。亚洲的种群变化并没有多少人关注，但该物种在其西部的范围已经被人们严格监控着。过去百年间（或许更长），该物种在这一地区的群体规模、活动范围和生境破碎化程度都出现了普遍的下降（Birdlife International 2004)。在过去这个物种出现较多的一些西欧国家里，如今只有少量残留的孤立群体生存着，而丹麦境内的物种在过去几十年内已经灭绝。

我们对黑琴鸡 5 个群体样本、8 个微卫星位点的遗传变异进行检测，发现其

中 4 个群体杂合度的观察水平并没有偏离预期值（表 3.1）。因此，这 4 个群体的近亲繁殖系数 F_{IS} 都显著等于 0，也就是说这些群体中没有近亲繁殖。要注意的是，F_{IS} 的估计值可能因为随机过程的原因发生变化而小于 0。如果结果与 0 没有显著差异，它便应该被视为 0，即不发生近亲繁殖。不过，其中的一个生活在英格兰北部的黑琴鸡群体，我们确实检测到杂合度观察值的显著减少，暗示过去曾发生近亲繁殖（Höglund et al. 2007）。由于成功的保护工作，这一群体现在在当地还是比较丰富的。然而，像所有英国黑琴鸡群体那样，其生境在过去的 100 年变得破碎化，因而所研究的群体已经受到严重的威胁。

表 3.1　一些欧洲黑琴鸡群体的遗传多样性。类别列按照隔离程度和群体大小排列，从连续的大群体到孤立的小群体排列（引自 Höglund et al. 2007）

类别	群体	采样年份	n	AR	H_e	H_0	F_{IS}
连续	Jyväskylä	1989～1995	57	4.49	0.74	0.66	**0.13**
	Østfold	1999	31	4.17	0.70	0.67	0.04
相邻	Abernethy	2000	16	3.93	0.63	0.65	–0.05
	Allgäu	1998～2000	23	4.38	0.73	0.69	0.06
	Ammer	1998～2000	18	4.20	0.73	0.71	0.02
	Vorarlberg	1998～2000	24	4.07	0.70	0.66	**0.06**
	Haut Savoi	1998～1999	9	4.16	0.72	0.67	0.07
	Tauern	1998～2000	27	4.12	0.70	0.69	0.01
	Tessin	1980～1983	16	4.61	0.73	0.64	**0.13**
隔离	Northern Pennines	2000～2003	21	2.85	0.57	0.48	**0.15**
	Salland	2003	31	3.16	0.53	0.44	**0.17**
	Rhön	1992，1995，2003	8	3.93	0.72	0.55	**0.25**
	Waldviertel	2001～2003	14	3.27	0.56	0.57	0.01
	Llandegla	2004	8	2.81	0.52	0.53	0.00

注：AR 指固定样本量为 8 时的等位基因丰富度（依据 Goudet 2001）；F_{IS} 指近亲繁殖系数（粗体表示具有显著差异）；H_e 指预期杂合度；H_o 指观察到的杂合度；n，分析个体的数目

3.2　群体遗传结构

正如在前面的章节中简单讨论过的，群体分化的程度是诊断受威胁群体的一个重要参数。当一个大的和广泛的群体个体数量减少时，很可能受到各种原因导致群体密度较低的地区的群体灭绝。如果群体个体数量下降严重，伴随而来的群体收缩涉及的范围可能越来越大，新出现的亚群体可能因此会变得相对孤立。亚群如果被孤立足够长的时间，可能发生独立演化，而局部适应（local adaptation）性和遗传漂变都有助于亚群之间遗传分化的出现（Charlesworth et al. 2003）。

地理上不连续的群体所面临的一个后果是，这样的结构将导致近亲繁殖（Wright 1921，1969）。想象一下，一个大群体被分成许多大小相等的较小的亚群，各个亚群之间的基因流是相同的，在任何亚群体的某个等位基因都的概率都由一个迁入产生，则

$$m = \Delta p/(p_1 - p_2)$$

其中，Δp 为迁移发生后等位基因频率的变化；p_1 为源群体（供给群体）的等位基因频率；p_2 为亚群体（接收群体）的等位基因频率。那么取决于迁移个体数量的基因流即可以通过群体大小 N 乘以 m 求得。

在没有选择的情况，群体遗传结构取决于群体内近交繁殖和基因流。这些事件的频率和强度决定了遗传结构。在群体内有近亲繁殖的情况下，群体遗传结构可以通过群体偏离哈迪–温伯格平衡预期的情况来确定。

假设有三级群体结构。I 是个体水平，S 是亚群水平，而 T 是全部群体（图 3.3）。由此可见，H_I 为个体平均观察杂合度，H_S 是随机交配亚群的预期平均杂合度，H_T 是所有个体的期望杂合度。

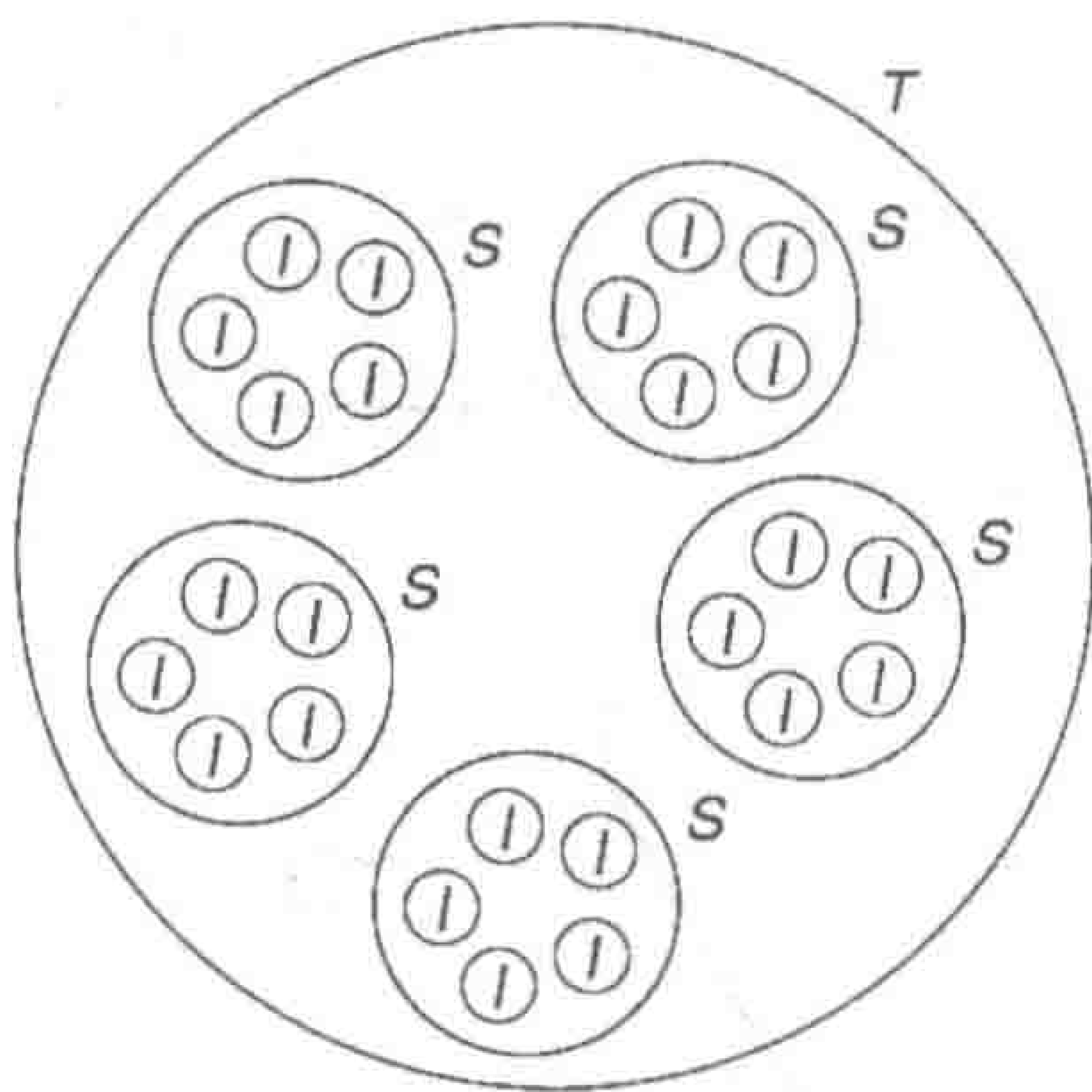


图 3.3 示意图说明了群体结构的三个层次：*T*. 全体群体；*S*. 亚群体；*I*. 个体

在一个集合群体（metapopulation）中，群体分散程度可被确定为

$$F_{ST} = (H_T - \text{mean } H_S)/H_T$$

这是一个用来评估集合群体分散程度的整体性固定指数。Wright（1969）表明，如果集合群体中所有亚群大小与距离均相同，那么

$$F_{ST} \approx 1/(1 + 4Nm)$$

有些时候计算成对 F_{ST} 值也是有其用处的。这种情况我们需要分开考虑群体中所有可能配对。在对于每一配对的 F_{ST} 计算中，我们需要假设计算的两个群体构成了该次计算中的总体。这种方式计算的 F_{ST} 可以认为是对群体之间遗传距离的估计。

亚群中由于局部近交繁殖降低的杂合度可以由下式算出

$$F_{IS} = (\text{mean } H_S - H_I)/\text{mean } H_S$$

这是一个整体的度量，对于任何群体，群体内 F_{IS} 的定义见 3.1 节。

近亲繁殖和群体分散共同作用的效果是

$$F_{IT} = (H_T - H_I)/H_T$$

它遵循

$$(1-F_{IT})=(1-F_{IS})(1-F_{ST})$$

由于许多受威胁物种正面临着分布范围越来越分散、个体越来越少和越来越孤立等保护上的困境，显而易见的是，人类影响对受威胁物种近亲繁殖的现状和结果负有一定的责任。因此，我们可以预测，总体而言，F_{IS}将倾向于在小型和孤立的群体中增加，这是近亲繁殖越来越多的结果。然而，并非总是如此，下面我将回顾不同研究的案例并解释可能的原因。有关保护的另一个普遍预测是，亚群体中的 F_{ST} 趋向于增加，这是群体分布区破碎化的后果。

3.3 有效群体大小

在保护生物学几乎所有的应用领域里，群体规模都是需要了解的最重要的参数之一。如第 1 章与上面已经提到的，保护遗传学研究的群体大小并不总是我们看到的群体大小，反而是是实际上繁殖和向后代传播其遗传物质的个体数目，是后代遗传变异的决定性因素。因此，遗传学家关心的是有效群体大小（effective population size，N_e）。理论上，这是定义为随机交配情况下预期的群体大小。

已知突变率 μ 的前提下我们就能够计算群体参数 θ

$$\theta=4N_e\mu$$

因此，在已知群体杂合度和突变率的情况下，我们就可以计算确定有效群体大小，例如

$$H_e= 1/(1 + \theta)$$

N_e 取决于许多因素，但是最重要的三个如下。

1. 繁殖率（有时表示为家系群体的方差）。这里 N_e 由下式可求得

$$N_e= 4N/(\sigma^2 + 2)$$

其中，σ^2 是家系群体的方差；N 是实际的群体规模。因此，在一些海洋鱼类中繁殖成功差别可能是极大的。一些亲代可能在一次繁殖过程中产生数千后代，而有些亲代则完全失败。因此，尽管群体可能很大或者我们观察到很大的群体，其 N_e 依然可能相当的低。

2. 不均衡的性别比例。当群体中有不同数量繁殖活跃的雄性和雌性个体时，N_e 可由下式求得

$$N_e = 4N_mN_f/N_m + N_f$$

其中，N_m 和 N_f 分别是雄性和雌性的有效数目。当性别比为 50：50 时，N_e 达到最大值。N_e 越低，性别比越失衡。

3. 群体大小波动会影响 N_e。更精确地说，有效群体大小由调和平均值决定：

$$N_e=n/[(1/N_1)+(1/N_2)+\ldots+(1/N_n)]$$

其中，n 为样本大小；N_1，$N_2 \ldots N_n$ 是不同时间群体大小的估计值。这里可以看出，即便是个体数量少的群体波动也会对整体调和平均值的估算产生影响，进而影响

有效群体大小 N_e 的估计值。

正如前面所指出的，至少在理论上我们可以计算“理想群体（Wrightian population）”的 N_e。一个“理想群体”是指处在哈迪–温伯格平衡下的群体单元。然而，对自然界真实群体应用有效群体大小的理论依然存在相当大的困难（Waples and Gaggiotti 2006）。在生态学理论中的群体，是处于灭绝与繁殖之间的平衡状态并长期维持的群体。在这样群体中的亚群体，或者说集合群体里，理论上的个体数是未知的，但人们已经尝试包括模拟等许多方式来归纳其个体数（见 Goldsteir and Schlötterer 1999）。

在有世代重叠的野生群体中估算其 N_e 并不是一个简单的任务（Jorde and Ryman 1995）。我们能够计算的 N_e 可以是整体的也可以是局部的，以及长期和短期的值。从杂合度计算得到的 N_e 是一个长期的值。Jorde 和 Ryman（1995，1996）推出了一个基于观测时间变化计算样本等位基因频率的方法。这种方法最近被修正以适用于样本量较小及等位基因频率极度偏倚的群体（Jorde and Ryman 2007）。在只有几个繁殖个体的小群体中，等位基因的频率变化很快，通过间接的方法估算得到的 N_e 可能取决于所进行测量的年份。同样，群体分化的估计值可能也会存在偏差。增加估计精确度的一种方法就是使用有连续时间段的遗传数据来估计 N_e 并研究群体结构的长期稳定性。Palm 和他的同事（2003b）采用 Jorde 和 Ryman 的方法，测试了 17 个同工酶位点来评估其时空遗传变异情况，并利用居住在河流的两个褐鳟（*Salmo trutta*）群体超过 20 年的数据进行 N_e 的计算（图 3.4）。结果表明，仅通过个别点估算 N_e 的值在不同年份之间可能有很大的差异。

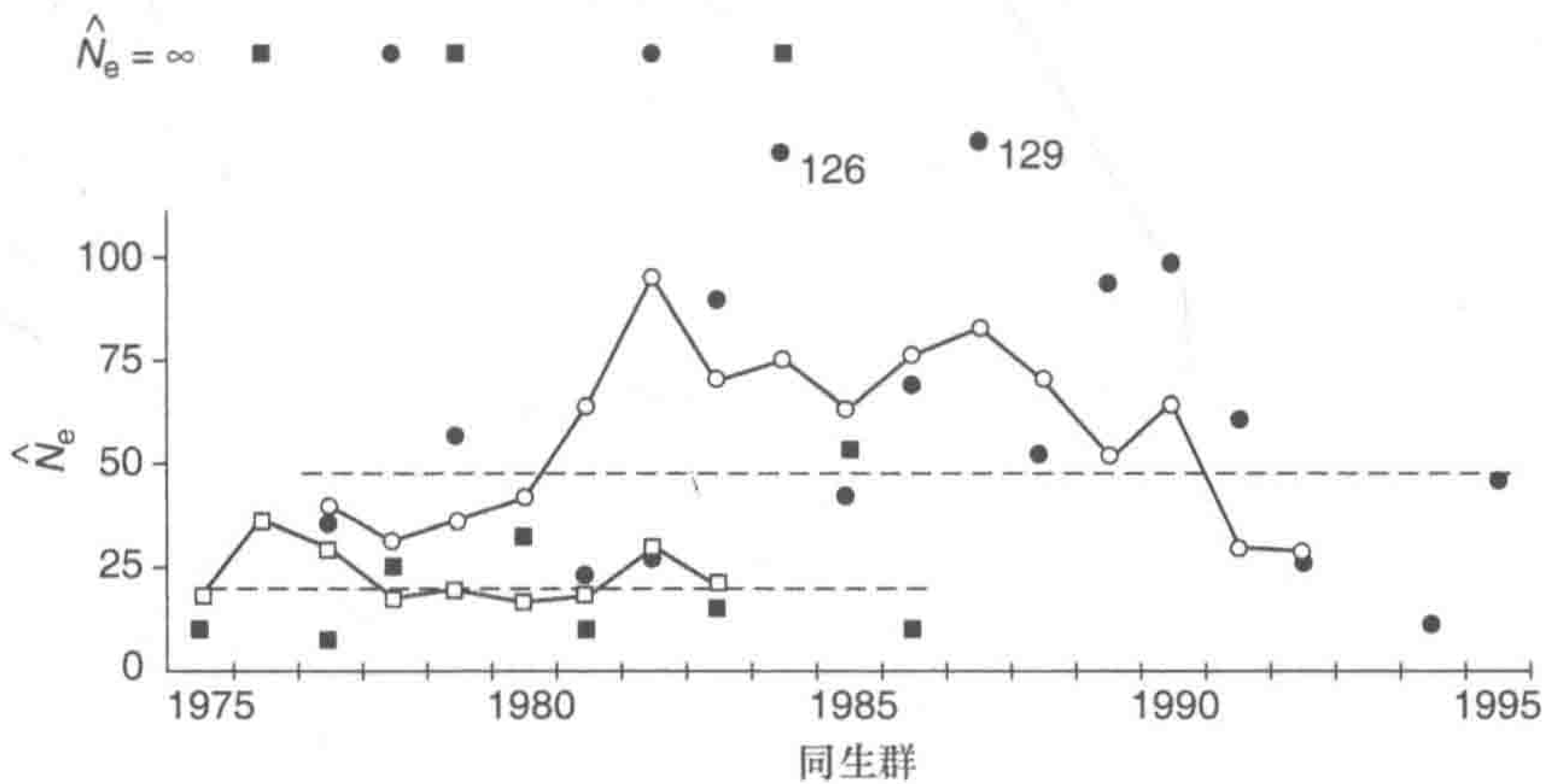


图 3.4　对两个地点的连续时间序列的褐鳟鱼有效群体大小的点估计，以及相应的调和平均有效群体数大小 N_e（空心方块）

N_e 是通过随时间浮动的近交系数 F 在 5 组（即 4 组两两群体）中的变化平均值。x 轴代表着估算 N_e 的第一组的年份。虚线代表着两个群体的平均 N_e。注意，离散的 y 轴和标明数字的点代表的都是 N_e 的估计（∞为无穷大）（引自 Palm et al. 2003b，在出版商允许下重新绘制）

3.4 濒危物种群体结构的例子

在我的研究小组对瑞典西海岸布胡斯省群岛黄条背蟾蜍的研究中，当我们同时用微卫星位点（F_{ST} = 0.25，P<0.0001；Rogel 2005）和扩增片段长度多态性（AFLP；F_{ST}= 0.13，P < 0.001；Thörngren 2006）进行检测时，我们观察到不同岛屿间群体遗传结构显著分化的情况。这表明，过去这些群体之间的迁移行为受到严重的限制，任何可能的繁殖和再繁殖行为都受到由于个体数太少而引起的群体瓶颈效应的影响，而这种效应亦导致了强烈的建群者效应。

同样地，我们在英国黑琴鸡的三个残余零散分布区域中也观察到强烈的遗传分化（F_{ST} = 0.13±0.04，P <0.001；见专栏 4.1；J. K. Larsson 未发表结果）。我们知道历史上英国黑琴鸡有更广泛和不那么破碎的分布。目前剩余破碎群体之间几乎不可能有迁移行为的发生，因此每个群体都彼此独立地存在，应视为独立的管理单位。

正如前面所提到的，确定濒危物种的群体结构非常重要。由于群体间迁移行为受到严重影响，分散的群体预期将出现分化。由于群体密度受到物种分布的限制而减少，群体也因此变得更加支离破碎（Hampe and Petit 2005）。物种边缘区域因此预期将出现由 F_{ST} 测定的更多分化。这是一个简单但不被完全证实的预测（见 Lönn and Prentice 2002；Mandak et al. 2005；Höglund et al. 2008）。

无论是西方松鸡（*Tetrao urogallus*）还是黑琴鸡的研究都表明，基因流在群体分布范围的边缘生境中都有一定程度的减少。阿尔卑斯山地区北部的西方松鸡群体之间，其配对 F_{ST} 随距离的增加而变大，这是一种随距离变化而发生隔离的假设情况（Segelbacher and Storch 2002）。而对于阿尔卑斯山中部的群体来说，它们的连续性更高，随距离变化被隔离的情况并不明显。同样，法国阿尔卑斯山地区的黑琴鸡群体分布在其物种区域的西南边缘，较近中部的群体而言，F_{ST} 更大，其随距离变化隔离的情况也更加强烈，在芬兰的群体，相比之下更靠近物种分布区的核心地带，则有群体间更高的连续性（Caizergues et al. 2003）。

多年生的远交植物长鞭满天星（*Gypsophila fastigiata*）在波罗的海厄兰岛上呈现斑块状分布，有研究表明，边缘群体在同工酶基因位点的遗传多样性比分布区网络中心的群体更低（Lonn and Prentice 2002）。研究者认为边缘群体的低多样性是由于遗传漂变（在较小的群体中有更多的漂变发生）和低水平基因流（隔离群体中水平更低）的共同作用引起的。

3.5 近交衰退

在小型和隔离群体中，近亲繁殖可能会更为普遍。近亲繁殖是通过非随机交

配产生，从而正如前面总结过的，杂合度降低了。由此可见，相对于近亲繁殖，远交（outbreeding）可能增加群体的杂合度水平。但无论是近亲繁殖还是远交繁殖，它们本身都不会带来任何与群体适合度相关的改变，因此它们对群体而言都无害。但是，当群体中某些个体表型对适合度具有负面效应时，近亲繁殖便成为保护生物学研究领域特别关注的对象。

在某些情况下近交可能导致近亲衰退（inbreeding depression），而通常来说，远交会导致所谓的杂种优势（heterosis）。可是，如果交配的两个个体基因差别太大，远交可能对适合度带来负面的结果，称为远交衰退。可见，近交–远交繁殖需要存在一个最佳的水平。

关于为什么近亲繁殖会导致近交衰退这一个问题，有两个常用但不一定互斥的假说（Charlesworth and Charlesworth 1987，1999）。第一，所谓的部分显性假说指出，近交衰退由于隐性有害等位基因的影响，隐性致死或致死基因在许多群体中都被分离出来，但频率均较低。当近交增加纯合度时，隐性有害等位基因都以纯合状态存在，导致表型在这些位点表达的可能性增加。第二个解释是超显性假说，指出近交衰退是由自交系群体的杂合度普遍下降引起的。有些情况下我们能看到，杂合基因型相比于纯合基因型有更卓越的表现（杂合子优势，如人类镰状红细胞贫血的细胞在抵抗疟疾中发挥作用的著名案例）。当近亲繁殖出现时，群体整体上在全基因组中会出现杂合度的减少，这可能会导致超显性的普遍下降，从而导致近交衰退。

在这两个假说下，群体近交衰退的程度取决于群体的遗传负荷。我们将遗传负荷定义为隐性等位基因的积累和（或）杂种优势的损失。然而，这两种假说之间有一个重要区别。在部分显性状态下，自然选择将最终移除导致近交衰退的等位基因。这将不会与超显性同时发生。

近年来，可以说部分显性假说获得了更多的关注，虽然研究人员一直谨慎地指出，这两个假说可能可以同时起作用。在那些仔细研究近交衰退的少数物种中，近亲繁殖的效果有一半由隐性致死基因引起，另一半则由于杂合优势的丧失（或那些没有被自然选择压制的其他遗传机制，Lacy and Ballou 1998）。

如果近亲交配的所有有害影响完全由隐性致死等位基因表达所致，那么每个二倍体基因组中的致死基因数量是群体中每个个体的平均等位基因数（Morton et al. 1956）。这意味着，在一个群体中近交衰退如果是普遍存在的，每个二倍体基因组致死基因就是每个个体的隐性致死等位基因，或者也有一些能产生同样效果的隐性有害等位基因的组合。

估计近交衰退的方法之一是通过对数模型：

$$\ln(S)=A-Bf$$

其中，S 是存活率（或其他与适合度相关的变量）；f 是近交系数；而 A 和 B 是参

数。因此，在一个谱系或实验杂交样品中的每一个个体的近交系数都由存活率的对数回归决定（Morton et al. 1956）。*A* 可以因此被认为是没有近亲繁殖情况下存活率的对数，*B* 是每个单倍体基因组中致死当量的比例。已有报道使用这种方法进行的相关保护工作，如最近对孔雀进行保护的例子（Nakadate et al. 2003；Van Oesterhout et al. 2007）。

近交衰退在圈养和实验室群体中普遍存在，不同研究群体与物种之间和群体内、物种内的近交衰退程度都不同（Lacy and Ballou 1998）。对半圈养群体的研究已经表明，近交衰退在没那么适合的环境下变得更加严重。例如，对小鼠近交衰退的研究发现，当小鼠生长在半圈养条件下，其近交衰退比生活在实验室里更好环境的群体的近交衰退更严重（Meagher et al. 2000）。Crnokrak 和 Roff（1999）在对来自包括 7 种鸟类、9 种哺乳动物、3 类变温动物（蛇、鱼和蜗牛），以及 15 种植物的数据进行综合比较时发现，在 169 个群体中，137 个性状显示存在近交衰退。他们也发现，相比于舒适的圈养条件下生活的群体，自然条件下的群体具有更加严重的近亲繁殖的情况。在小群体中，这也是许多濒危物种群体的性状，由于遗传漂变的累加效应导致群体所有个体适合度下降，所有个体都可能受到近交衰退的影响（Hedrick and Kalinowski 2000）。

在野生动物研究中，岛屿群体在很早以前就被用于长期研究，主要是因为岛屿上的研究群体受到地理限制从而更容易理清。通过标记个体的方式检验近交衰退的存在，这种方法在多个群体如大山雀（*Parus major*）（Van Nordwijk and Scharloo 1981）、歌带鹀（*Melospiza melodia*）（Keller 1998）、达尔文雀的两个物种（Gibbs and Grant 1989，Grant and Grant 1995）和斑姬鹟（*Ficedula albicollis*）（Kruuk et al. 2002）的长期研究中都有所进展。同样地，一项对马鹿（*Cervus elaphus*）这一岛屿群体的研究也表明了在其群体中近交衰退的情况（Coulson et al. 1998，1999；Slate et al. 2000）。

在瑞典的边境上的挪威山脉生活着一个引入的小型麝牛（*Ovibus moscatus*）群体。1971 年人们将 5 头麝牛带入瑞典，随后这一群体发生近交衰退，以至于在不久的将来这一群体很可能会因此而消失（Laikre et al. 1997；图 3.5）。

尽管在自然群体中已经有了十分充足的证据支持近亲繁殖和近交衰退的普遍存在，但也常有无法检测到濒危物种近交衰退结果的研究出现。许多植物物种和植物群体都是自体受精。这意味着，在绝大多数或者至少有些情况下，这些群体处于完全近亲繁殖（F=1）的状态（Schemske and Lande 1985）。在动物中，一些我们已知存在严重近亲繁殖的动物群体并没有明显近交衰退迹象的表现（如 Groombridge et al. 2000）。这些群体不存在近交衰退的一个原因是，群体生活史可能会影响近交衰退的程度。这也可以解释为什么在圈养和实验群体中，我们在物种和研究种群之间或者种群内所观察到的近交衰退的程度差异可以是很大的。

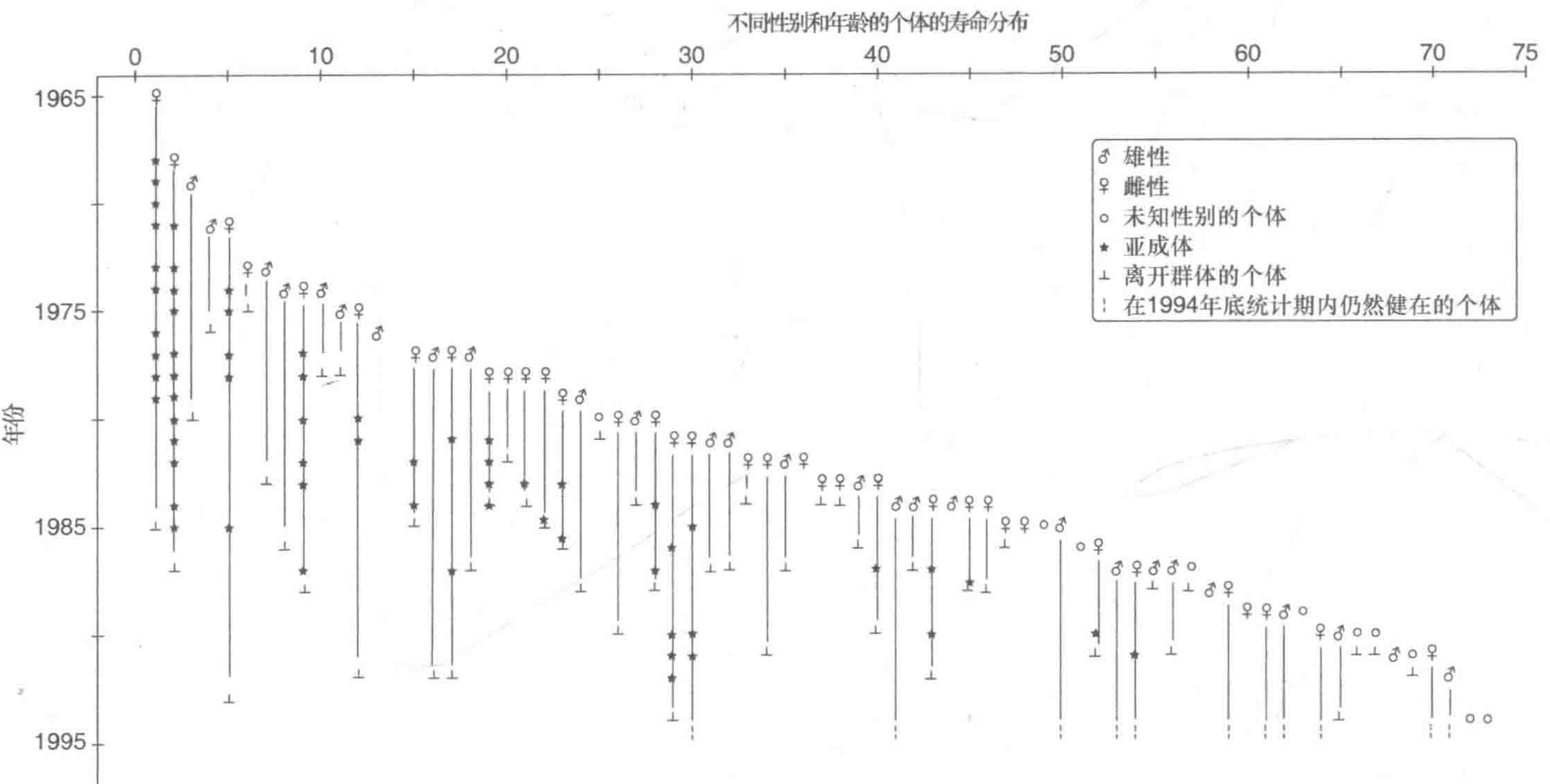


图 3.5 瑞典一个近交的麝牛兽群的寿命

这个兽群的祖先是从挪威迁徙到瑞典的，群体构建后没有外来迁入者（引自 Laikre et al. 1997，在出版商允许下重新绘制）

当处于瓶颈效应或近亲繁殖的过程中，遗传变异将会丢失，并伴随着一些有害变异也会一起丢失。换句话说，该群体的遗传负荷（genetic load）可能会降低。然而，理论和实证都在质疑群体瓶颈效应的作用，在某些情况下，自然选择清除有害隐性基因的情况可能会发生。因此，我们常常会对长期近亲繁殖和短期近亲繁殖的具体情况进行区分。

在长期的近亲繁殖过程中，一个群体中多个世代存在着自然选择的作用（Frankham et al. 2001）。理论研究（Kirkpatrick and Jarne 2000）显示，群体规模一旦下降，近交衰退也将突然降低，但即使在严重的瓶颈效应情况下，这个降低幅度依然不大。高度隐性的突变会经历一个清除的过程，导致未来多个世代近交衰退的下降，但在受到瓶颈效应的 10 个及以上个体组成的群体中，近交衰退只会下降几个百分点。

因此，有人提出，对于圈养群体的育种程序，应该尽可能模仿长期近亲交配的过程。不过，长期的近亲繁殖在降低灭绝风险的有效性上依然存在争议。Frankham 和他的同事（2001）对黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）群体评估了通过近亲繁殖而消除灭绝风险的作用情况。整体来看，在控制的实验组与对照组之间只有很小但不显著的差异，这表明清除效应在群体里面是很小的。

在短期的近亲繁殖过程中，自然选择能够起作用的时间太短，以至于自然选择并不能从群体中剔除致死基因。因此，短期的近亲繁殖群体没有任何关于近交衰退的可量化结果。这里需要说明的是，上面所使用的“长期”或“短期”的近亲繁殖，只是针对连续过程中的极值而言，因此这两者之间其实没有明确的差别。

3.6 杂合度与适合度的相关关系

正如上文所述，近亲繁殖可能会严重妨碍个体的存活率及性状表现，从而导致群体个体数的下降，甚至出现局部灭绝的情况。因此，很多关注保护生物学的研究都转而去检测和衡量近亲繁殖对濒危群体的负面影响（Hedrick and Kalinowski 2000，综述部分；Keller et al. 2006）。理想的情况下，近亲繁殖可以通过谱系数据估计（Wright 1922），这是动物园群体内常用的最小化近亲繁殖阈值的方法（Kalinowski and Hedrick 1998）。然而，在野外的自由放养群体中，获得谱系信息的难度很大。因此，研究人员尝试了多种方法来简要估计近亲繁殖带给群体的负面影响。大多数方法都是基于近亲繁殖减少群体杂合度的思维方式，因此杂合度更低的群体对应着存在更高程度的近交情况（Coltman 1998，1999；Coulson et al. 1998；Pemberton et al. 1999）。近来这种做法因过于经验性和理论依据不足受到严厉的批评，人们更建议通过分析分子数据的方法来推断谱系情况（Pemberton 2008）。然而，许多研究都确实发现了个体杂合度的多种测定数值与个体表型的各

项指标之间存在统计意义上的关联（如 Slate et al. 2000；Rossiter et al. 2001；见 Kempenaers 2007）。

我自己的研究小组曾经做过一项相似的研究。我们对大量雄性的黑琴鸡进行研究，监测这些个体在野外的行为，并对其测定了的 15 个微卫星位点基因。我们研究了这些雄性个体一生中进行的所有求偶行为，并与近交繁殖进行了相关分析，近交繁殖是通过对芬兰中部的一个群体自 1989~1995 年的数据间接计算出来的（Höglund 2002）。结果显示，近亲繁殖近似于两个估计的杂合度（杂合度越低，近亲繁殖程度越大）。我们发现杂合度的其中一个测定值与终身配偶成功率（LCS）之间存在显著的正相关关系，而杂合度的其他测定值与LCS的相关性也接近显著。我们还发现，从未上过求偶场的雄性个体的平均杂合度，比在那些一生中至少有一个交配季节出现在求偶场上的雄性个体的更低。此外，在成功得到上求偶场机会的雄性当中，在求偶场中央的雄性的配偶成功率和杂合度最高。这些数据意味着，杂合雄性在争夺求偶场机会上存在优势。虽然我们还不清楚这些关系最终是否由近亲繁殖驱动和促进，但如果真是这样，近亲繁殖的雄性将比远亲繁殖的雄性具有更低的适合度。

这是一个第一次尝试在非隔离的群体中建立近亲繁殖与适合度相关性的研究。十分重要的一点是，它确定了以往在封闭的岛屿群体和圈养群体中发现的限制性扩散导致基因流降低的情况并非人为导致的，而是野生脊椎动物群体中的普遍特征。此外，如果我们在芬兰多个庞大而连续的群体中发现近交衰退的迹象，就表明我们在黑琴鸡群体的保护中不应该忽略近亲繁殖的影响。我们依然需要去了解在什么情况下近亲繁殖将给群体带来不利影响。可以预见，一个经历了快速破碎化而数量锐减的群体（短期的近亲繁殖）应该比那些数量锐减程度更为稳定的群体受到更强的近交衰退影响。因此，近亲繁殖在受威胁和孤立的欧洲中西部黑琴鸡群体带来的负面影响可能远远强于在芬兰的黑琴鸡群体。另外，如果这些群体所经历的是慢速的近亲繁殖，那么灭绝风险可能已经被清除了。

尽管我们在许多生物群体中都发现有充分的证据说明杂合度和适合度之间存在一定的关系（Kempenaer 2007），但对杂合度和近亲繁殖之间是否存在一样直接相关的关系，我们并不清楚。以下是引用 Kempenaers（2007）的一段话："人们对杂合度和适合度之间的关系存在着太多的怀疑，其效应关系的普遍性和程度屡遭质疑，而人们也在关于这一相关性是否反映了近亲繁殖或别的因素方面激烈地争论着"。

杂合度和适合度之间的关系是否是个普遍性的现象受到的质疑的原因主要有两个方面。第一，这些研究中可能存在一定的结果偏见，即研究者会将确实发现显著相关关系的研究出版，那些没有发现相关关系（阴性结果）的研究没有机会被发表。第二，研究报告所涉及相关关系的群体规模通常很小（Coltman and Slate

2003)。有人指出，由于这种影响一般不太显著，研究人员需要考虑使用大量个体的群体和数量更多的分子标记以避免犯统计上的第二类错误，即应该使用 10 000 个基因型(个体乘以标记数)的数量级进行研究，以得到更有意义的解释(Slate and Pemberton 2002)。这种数量级的研究即便有，也很少在实际的研究中能够达到，尤其是对于濒危和小群体而言，这样的实验设计是非常困难的。

部分争论在于如果杂合度和适合度之间存在正相关关系，那么如何解释其中的机制, 人们提出了三个假说(见 Hansson 和 Westerberg 在 2002 年所做的一个综述)。

第一个假说是所谓的整体效应假说。根据这一假说，杂合度和适合度之间的正相关性是由于基因组层面杂合度的下降，而这一结果是由近亲繁殖和近交衰退带来的负面影响所造成的。这一假说使用选择上中性的标记，不直接涉及或连锁导致近交衰退的位点，但全基因组杂合度丢失。因此，该假说预测，所使用的所有标记位点的杂合度都应该与适合度相关。

第二个是局部效应假说，该假说认为杂合度与适合度之间的相关性是由于功能基因位点的纯合度带来的负面影响导致。这样的效果是通过特定的标记位点和与适合度相关的特定基因位点之间的连锁不平衡驱动。因此，这个假说预测，标记位点的杂合度应该是与适合度不相关的。

最后的一个假说是直接效应假说，它认为特定标记位点对杂合度与适合度的关系有直接效应。当所使用的标记位点是等位酶或功能基因（如 *Mhc* 位点）时，这种效应被认为是最严重的。这个假说因此不适用于微卫星标记，因为它们几乎总是假设为选择上中性。然而，有越来越多的证据表明，微卫星重复数有时可能存在功能的意义，例如，影响复制和基因表达（如 Chistiakow et al. 2006)。然而，对于大多数微卫星而言，其具有直接效应往往并不紧要。

人们有一个普遍的共识，认为整体效果假说不能解释所有的杂合度和适合度的关系。因此，通过近交系数衡量的近亲繁殖情况作为对这一关系的单一而整体的解释变量, 并不被人们所赞同(Coulson et al. 1998; Balloux et al. 2004; Pemberton 2004; Slate et al. 2004)。相反，人们设想了另外两个更复杂的情景。有人指出近交系数不能完全评估个体中具有亲缘关系的等位基因比例（Markert et al. 2004)。要看到这一点：全同胞平均分享它们基因组的 50%，有 0.25 的近交系数。这是一个均值：个体可能更多或更少地共享它们的基因组。因此，这一解释意味着，多位点杂合度是一个比近交系数更好的衡量标准，包括对近亲繁殖和群体对近交衰退的敏感度的评估，并可以解释为什么即使在具有相同近交系数的个体组合内，也能够发现杂合度与适合度具相关关系的现象。

对于杂合度与适合度具相关关系的另一个解释是局部效应假说，即一些标记位点与特定部分基因组存在物理位置上的连锁不平衡。这种解释在一部分但并非全部实例研究中得到相关的结果(Kempenaer 2007 的综述；另见 Ferreira and Amos

2006)。就目前的实际证据而言，最稳妥的想法应该就是在尝试去了解实际经验数据时，同时对这两种假说加以考虑。

3.7 援救效应

生态理论预测，从附近群体的迁入可以防止小群体的灭绝。Brown 和 Kodrick-Brown（1977）提到了关于援救效应（rescue effect）的两个原因。一个是濒临灭绝群体个体数的提升，被称为个体援救效应。另一个原因解释了为什么迁入的个体能够援救受威胁的群体，是因为迁入个体能够增加群体中的遗传变异。这将减少近交衰退，并增加了自我适应潜力。这种特别的效果被称为遗传援救（genetic rescue）（Ingvarsson 2001）。

在一些研究中（有的已在这本书中提到，见第 1 章），研究者也提到了援救效应的发现。相关的援救措施要么通过自然的迁移发生（在斯堪的纳维亚半岛的狼群例子，Ingvarsson 2002；Vila et al. 2003；Liberg et al. 2005），或通过保护学家从外地向濒危群体迁入个体的干预（在美洲狮佛罗里达亚种（*Puma concolor cory*）的例子，Pimm et al. 2006a；美国伊利诺伊草原松鸡群体例子，Westemeier et al. 1998；极北蝰群体例子，Madsen et al. 1999，2004）。每个例子都强调了原有的每个缩减的群体，都显示出了跟近亲繁殖相关的异常特征或者近交衰退的迹象，在引进新成员后这些特征和迹象都纷纷消失。而在提到的这些情况下，都有证据显示这些群体曾经出现负增长而后扭转形势并开始扩大规模。

这些例子也不是没有争议的（参见如 Creel 2006；Maehr et al. 2006；Mills 2006；Pimm et al. 2006b；Culver et al. 2008 关于美洲狮佛罗里达亚种的例子）。所有的这些例子都涉及对存活群体进行管理的各种保护工作。就其本身而言，它们都不是能够控制非遗传因素的实验室实验。例如，除了从遗传多样性高的群体中迁移个体进入受胁迫群体的措施之外，还有很多其他典型的途径来提高我们关注群体的生存条件，如栖息地改善、控制天敌等、补饲等。因此，即使实验结果符合我们的预期，甚至群体中部分等位基因发生了恢复，我们依然难以将其归因于任何具体的遗传效应。群体个体数增加的原因可以包括：①遗传变异的增加，使群体摆脱了不良遗传效应的影响，如近交衰退等；②群体大小的增加带来的群体效益；③前面两种原因的综合结果。

我们研究了波罗的海岛屿于特岛（Utklippan）上的一次关于濒危绿蟾蜍（*Bufo viridis*）群体成功引入外来个体而恢复的例子（B. Rogell et al. 未发表的结果）。这一成功的引入使得当地绿蟾蜍的群体规模迅速增加。我们借助 AFLP 检测了引进期间和引入后当地群体的遗传变异情况。我们计算了这两个群体的等位基因频率，以得到能够导致所观测世代中的发生遗传漂变的群体大小量，从而我们发现，群

体在成功引入个体后的恢复状态与强瓶颈效应（N_e小于两个个体）之间存在一定关系。因此，仅仅依靠引入外来个体来达到遗传恢复几乎不可能，而群体增长所带来的良性结果在这种情况下占有非常重要的地位。不过，相比于数量变异的测量值，我们并没有获取到多少关于中性遗传变异的信息（Reed and Frankham 2001）。因此，我们不可能完全排除于特岛上绿蟾蜍群体中遗传恢复的重要性。

3.8 结　论

近亲繁殖实际存在于任何封闭的、非随机交配的群体中，而当群体规模缩小时近亲繁殖的程度更高。如果近亲繁殖导致近交衰退，这可能为受威胁物种的群体带来严重的后果。因此，一些研究者认为所谓的遗传援救计划也许可以起到积极的效果，通过从同种的其他群体中引进个体来提高自然群体的遗传变异。然而，这样的遗传援救计划并不是没有争议的，并且在大多数文献中，人们一直在争论这一措施带来任何可能的正面效应究竟是来自对遗传多样性的重建，抑或是仅仅由于群体数量上大小变化的结果。我们似乎可以非常有把握地认为，当有效的群体大小在短时间内变得非常低（$N_e<10$），以及当群体在形态、生理或生活史性状上出现明显的近交衰退迹象时，我们就应该考虑对该濒危群体实施遗传援救措施了。

4 环境变化中的遗传多样性

纵观地球上的生命史，环境总是在不停地变化，而那些不能够适应这种改变的群体则走向灭绝（Erwin 2006）。就在我们撰写这段文字的时候，由于人类引起的环境变化尤其是全球变暖的影响（IPCC 2007），可能已经成为社会或自然科学领域大多数人最关注的话题。在过去的年代里，气候也曾经发生变化。大约 20 000 年前，在更新世冰河时期，北半球比现在要寒冷得多。而目前北半球生活的一些物种（如驯鹿和北极狐）都受到了环境变化的威胁，因为它们的生境在地球冰川作用周期的现阶段正逐渐缩小（Dalén et al. 2005）。这一进程将会越来越快，因为人类引起的气候变化正在使地球温度逐渐升高。因此对那些适应寒冷生境的物种来说，它们正生存于一个逐渐缩小的环境之中，同时生存的范围将越来越小。这一类物种的遗传变异格局将与那些我们已知正因环境变暖而扩大其活动范围的物种的遗传变异格局之间形成鲜明的对比。学者们关注那些受益于气候变化而扩大其范围的物种，因为可以通过它们了解适应于新环境而成功繁殖的内在机制。这一类研究都清晰地与入侵物种的研究相关联，而入侵物种已成为全球本土野生物种的主要威胁。那么，究竟要有怎样的生态条件与遗传条件，才能够让一个物种成为成功的入侵者呢？

4.1 生境破碎化、自然及人为引起的屏障与基因漂流

正如我们在这本书开头讨论过的，群体的隔离与破碎化可能对现存物种的适合度和生存力带来极度不利的影响，对于那些具有潜在演化能力的物种亦然（见 Ferrière et al. 2004 的文章）。因此，了解是什么因素导致了群体破碎化，以及如何能够减缓其影响，都是十分重要的。人口增长所带来的普遍影响是自然生境的丧失，那些仅存的生境也被割裂成越来越小的斑块，它们之间的距离也越来越远。同时，人类社会的基础建设，像道路、铁路和其他工程建设，将限制动物的移动，并且会对动物的迁徙造成阻碍。最小存活群体规模也往往不适用于在破碎生境生活的、被人类影响而隔离的群体。这样的结果导致的群体遗传结构被认为影响了群体数量的维持及群体的长期存活，因为隔离且基数小的群体必将承受更高的灭绝风险（Frankham et al. 2002；Goossens 2006）。

灭绝漩涡模型认为，被隔离且基数小的群体将处于因扩散行为减少而近亲繁

殖增加的状态，以及受到越来越严重的遗传漂变影响，最终沿近亲繁殖与遗传漂变等过程的漩涡螺旋向下直至灭绝（Loeschke et al. 1994）。我们之前也讨论过，遗传变异的丧失可能进一步影响所有群体对未来选择压力改变的适应能力（Soulé 1976；Lande 1988；Frankham 1996）。然而，生境破碎化影响群体生存能力的理论结果只在很少的、处于合适时空尺度下的自然群体中得到验证（Hitchings and Beebee 1998；Landweber and Dobson 1999）。如此限制了我们原本期望能基于遗传数据对自然群体实现管理与控制，并企图减缓生境变化对群体造成影响的能力。

对人类引起生境破碎化的实证研究进展之所以如此缓慢，一个理由可能是，像 F_{ST} 分析那样的早期分析工具都依赖于假设的群体。在某些条件下例如在物种分布上有明显地理障碍存在时，对群体遗传结构的推断可行而且很容易去证实。但是，自然群体并没有这么明确的界定。因此，人们发展了很多不依赖于有预期的群体遗传结构的统计方法，并且能够由研究人员根据他们自己的数据定义统计方法中的群体结构。

检测个体样本中基因型是否具有群体遗传结构的最简单方法，可能就是搭建一个二维的遗传结构图。如果在图上出现有相互分离的聚类，可能说明这一群体中有群体结构的存在。关于这方面工作有几种技术，大都与主成分分析相似，基本都将研究对象降至二维平面（专栏 4.1）。

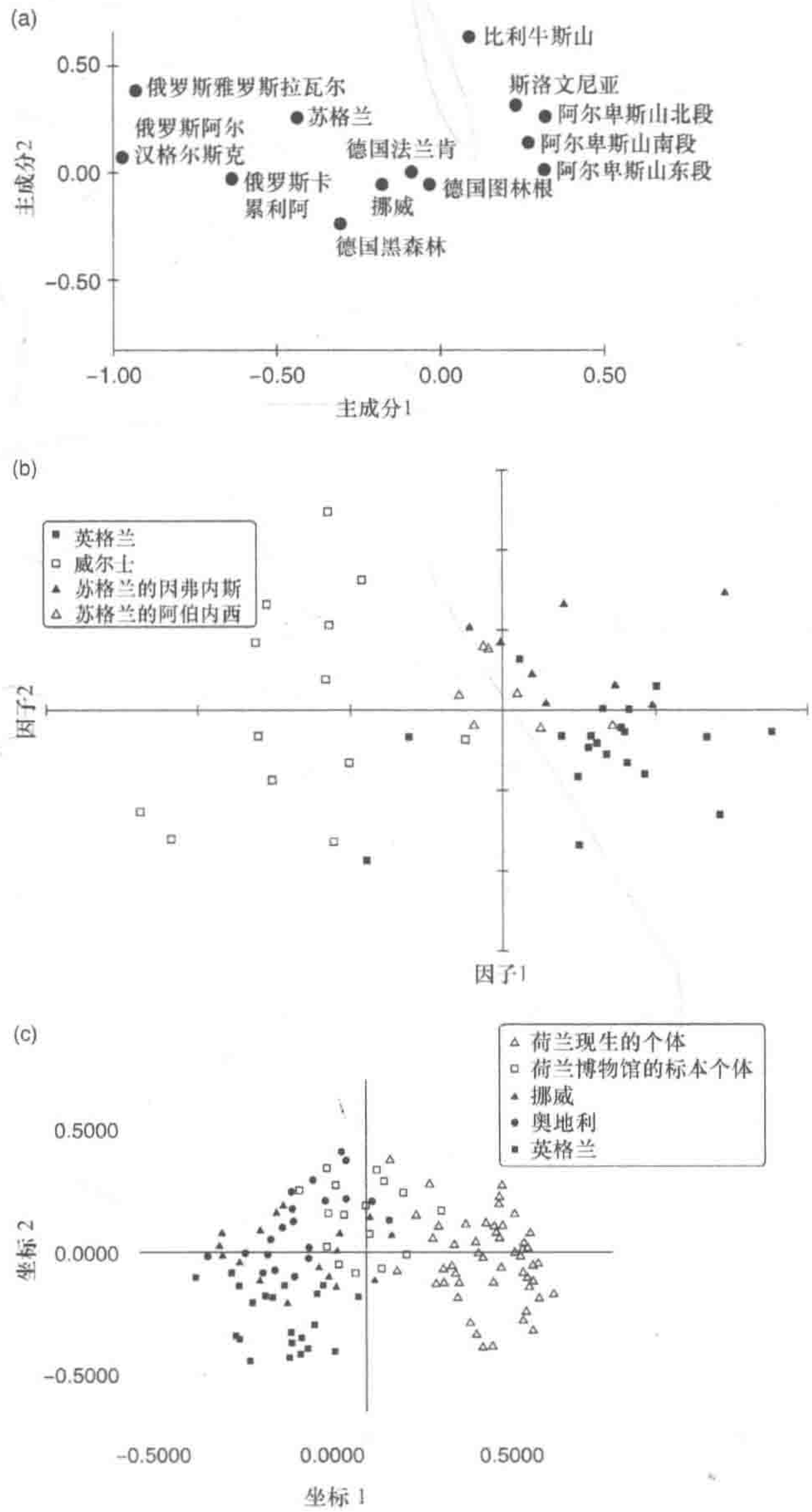
专栏 4.1　多位点遗传数据二维可视化技术

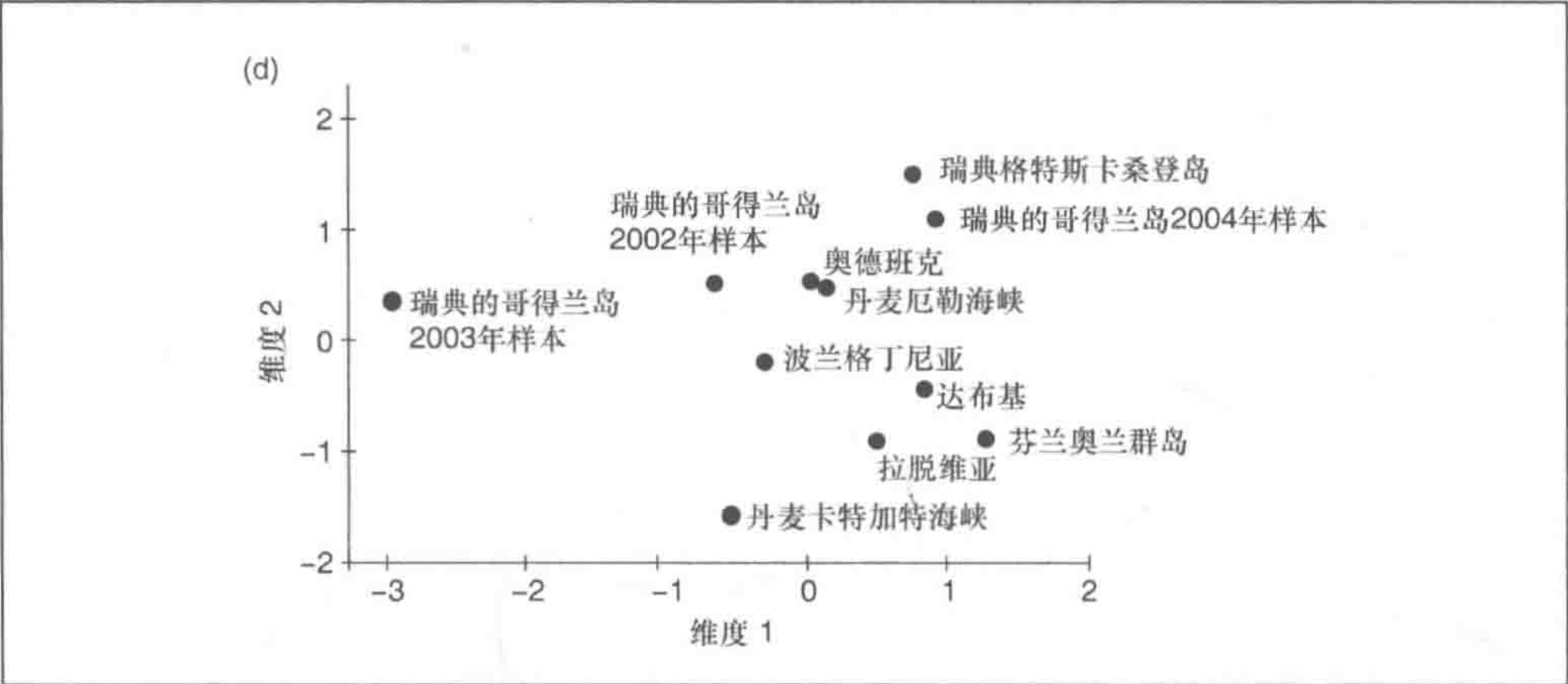
这一类技术在绝大多数标准数据统计软件里面都能够找到。对于在群体遗传软件中的实际应用，我们在下文中提供了具体的参考软件。

整体来说，这一类分类技术的产生有两大目的。一个目的是减少分析中的变量个数（对于二维作图来说，这里指的就是减少至两个变量），另一个目的就是将描述对象相关的变量进行分类。例如，在表型变量的研究中，变量可能被分成描述“大小”与“外形”两个类别。在群体遗传研究中，这类技术最常用于展示多位点的遗传数据，或是在二维角度描述群体间遗传距离（Legendre and Legendre 1988；Quinn and Keough 2002）。

正如示例那样，这些分析能够用群体均值的形式把群体之间的遗传距离可视化［专栏图 4.1（a），主成分分析，西方松鸡的数据来自 Segelbacher et al. 2003］，群体或个体间遗传距离［专栏图 4.1（b），相关关系分析，英国黑琴鸡数据来自 J. K. Larsson et al. 未发表数据；专栏图 4.1（c），主成分分析，中欧黑琴鸡数据来自 Larsson et al. 2008］，或群体间遗传距离［专栏图 4.1（d），多元尺度分析，大菱鲆数据来自 Florin and Höglund 2007］。特别说明，在这些示例中数据的提取都是随机的，原则上这些示例能够适用于这类技术的任意一项。

分析方法	方法缩写	软件名称	参考文献	下载网址
多维尺度分析	MDS			
主坐标分析	PCO	GenAlEx	Peakall 和 Smouse 2006	http://biology-assets.anu.edu.au/GenAlEx/Download.html
主成分分析	PCA	PCAGEN		https://www2.unil.ch/popgen/softwares/pcagen.htm
对应分析	CA	Genetix	Belkhir 等 1996～2001	http://www.genetix.univ-montp2.fr





主成分分析（PCA）或多元尺度分析（MDS）等这些多维度分析方法能够帮助我们认识不同个体与群体的聚类。然而，要说明的是，这些图示方法只能够间接地与统计程序相联系，而正是那些统计程序才能够辨别同质个体的聚类（Evarnno et al. 2005）。

下文中我们将举出一些例子来说明地理结构是如何从多位点遗传变异中被分辨出来的。在西方松鸡（*Tetrao umgallus*）群体中，沿第一主成分（PC1）有明显的地理结构表现，即在地理上邻近分布的群体，在图中有更高的聚集倾向：来自俄罗斯与芬兰的群体分布在图中靠左位置［专栏图 4.1（a)］，而来自阿尔卑斯地区和比利牛斯山脉地区的群体分布在靠右位置，来自中欧的群体则分布在它们之间。但是，图中也存在着大量的零散数据，并且我们并没有证据表明在不同群落聚类之间有明显的遗传结构差异（Segelbacher et al. 2003）。

黑琴鸡（*Tetrao tetrix*）给我们带来了另一个例子。这一物种曾经在大不列颠群岛上广泛分布，但如今面临着生境范围逐步收缩的困境，现存群体也越来越破碎化，相互之间隔离状态逐渐加强（Hudson and Baines 1993）。目前，人们发现了分散的三个黑琴鸡分布区，其中一个在苏格兰地区的爱丁堡与格拉斯哥一带的北部。该区内各亚群因高山与湖泊隔断其适宜生境，在自然状态下变得分散。第二个区域在英格兰奔宁山脉北部周围及南苏格兰地区。第三个区域在北威尔士地区。这两个区域内的群体由于频繁的人类活动与高强度的土地利用的干扰，比北英格兰群体更小且更破碎化。它们的区域分布与群体迁移之间的关系并没有很清晰，因此即使这种关系真的存在，必然也是有一定限度的。遗传变异上的相关关系分析（CA）显示，当按照前两个轴绘制时，三个聚类会存在一定的重叠情况，分别对应有 8.87%和 7.82%的遗传变异［专栏图 4.1（b)］。这张图显示遗传数据上的不连续现象与地理分布上的不连续性存在对应关系。对三个具有明显区域性的

群体进行 F_{ST} 的两两比对结果也支持这一个结论，尽管苏格兰的阿伯内西和因弗内斯之间的比对差异经 Boferroni 校正后并不显著（F_{ST}=0.05），但也说明研究包括的所有区域之间存在着显著的遗传结构（英格兰群体与威尔士群体间的 F_{ST}=0.11，英格兰群体与苏格兰群体之间的 F_{ST}=0.07，威尔士群体与苏格兰群体之间的 F_{ST}=0.10，所有的对比中 $P<0.01$，说明这些群体之间的差异是显著的）。

三个区域之间的差异很可能因为区域内群体在近代发生的隔离而被放大了，但是，我们也必须考虑那些单纯只由地理上的隔离引起的基因频率梯度变化，即“距离导致隔离（isolation by distance）”模型导致的。在关于欧洲中部黑琴鸡的另一项分析中，我们能够看到不同群体间地理遗传差异会发生快速的演化。通过对博物馆标本及现有荷兰境内存留的黑琴鸡群体的个体分析，我们证明了现有群体早在近 50 年间就已经演化成区别于欧洲其他黑琴鸡的群体[专栏图 4.1（c）]。

可是，时间上的差异也可能将地理分析结果复杂化，这在鱼类群体的研究中非常普遍。鱼类的世代效应是现今被研究比较透彻的一种现象。在大菱鲆（*Psetta maxima*）群体中，三个来自相同地理位置（哥特兰岛外）现存样本显示了与全基因组样本一样多的变异情况［专栏图 4.1（d）]。相似的，早期有一份关于欧洲鳗鲡（*Anguilla anguilla*）群体地理结构差异的研究（Wirth and Bernatchez 2001），其影响因素或许可由不同年龄阶段的世代间差异而非地理结构差异解释（Dannewitz et al. 2005）。

在分离的群体中分辨迁移个体以用来估计基因流和遗传连接度，往往都是很有效的方法。为此人们研发了几个数理统计方法，都可被归为来源“归属群体检验（assignment test）”一类（Paetkau et al. 1995；Rannala and Mountain 1997；Cornuet 1999）。这些方法利用关于源群体的已知结果对应于群体中的个体与群体，用来推测多种受胁迫物种的迁移水平、隔离情况及保护状态。

Paetkau 和他的团队（1998）利用了多元尺度分析和标定检验，发现阿拉斯加海岸棕熊（*Ursus arctos*）是从棕熊群体在大陆上的连续分布演化而来的，而非从阿拉斯加内陆体型更小的灰熊隔离演变而来。相反地，他们也发现南阿拉斯加 Kodiak 岛上的棕熊与陆地上的的近代群体没有或只有很少的基因交流（图 4.1）。这说明对棕熊而言，水体是扩散上的一大障碍，来自 4 个海岛群体的研究也说明了当水带宽度在 2km 时，群体的扩散将会被限制甚至停止，这时候所有来自 Kodiak 岛的个体就只能被困在这个岛上。在所有样本中，棕熊在 92%的情况下能够被准确地定位它们所属的群体，但也存在很强的趋势将个体错配给最相邻研究区域的情况。这说明棕熊群体的扩散是一步一步发展的。

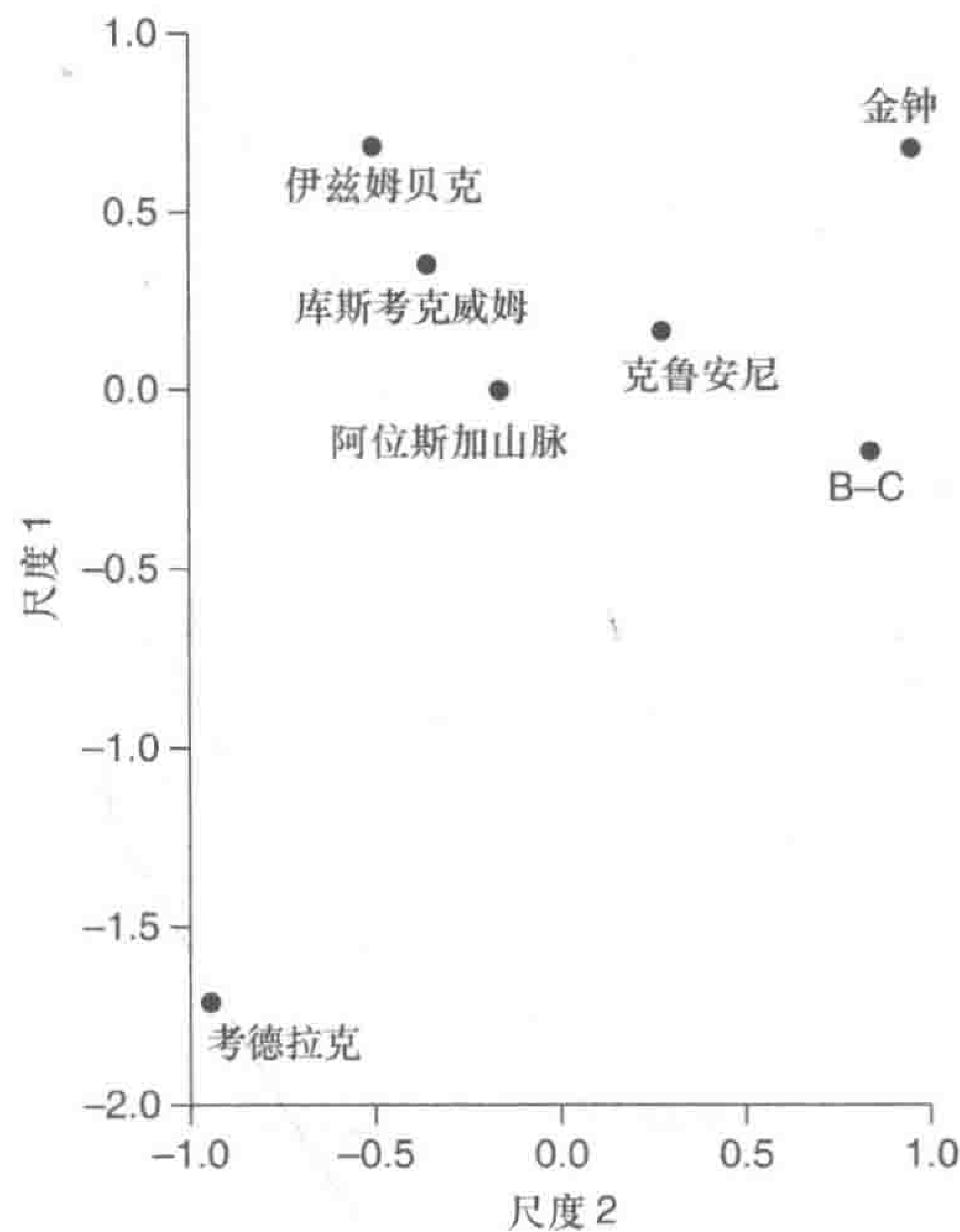


图 4.1　多元尺度分析下阿拉斯加棕熊群体之间遗传距离的聚类分析图（引自 Paetkau et al. 1998，在出版商允许下重新绘制）

在北美，貂熊（*Gulo gulo*）群体曾经一度覆盖了从阿拉斯加向南一直到新墨西哥州的地区。如今在阿拉斯加地区之外的美国领土上，残余的小型群体仅仅分布在西北部，相邻于加拿大的群体。标定实验显示蒙大拿州群体存在高度的群体亚结构及低水平的基因流（Cegelski et al. 2003）。这些结果明显区别于在加拿大与美国阿拉斯加地区低破碎化生境环境下对群体的研究结果，说明蒙大拿州的貂熊群体正由于人类的发展和干扰变得越来越破碎。

貂熊的研究为我们提供了一个很好的例子，即如何将近期开发的遗传分析工具应用于人类引起的种群破碎化研究之中。研究所用群体归属方法最初由 Paetkau 等人开发，利用观察到的各个预期群体中等位基因频率来计算每个群体中基因型的可能比率，个体则被定位在似然值最高的群体中（Paetkau et al. 1995）。

在貂熊的案例中，决定预期群体并不简单（图 4.2）。因此，在软件 Structure（专栏 4.2）中使用的算法是用来根据提供的数据找到最有可能的群体数量。然后，在 Structure 中多种不同的归类方法选择其中一种进行计算。结果显示，不同的计算方法得到的群体分类结果具有高度的一致性（84%），而重复迭代的个体标定操作得出的结果也与 Structure 的结果中 97% 样本个体相符。这说明了蒙大拿州的貂熊群体遭受人类造成的破坏与干扰而变得零散程度更高，也因此往物种分布范围的更北边分散。

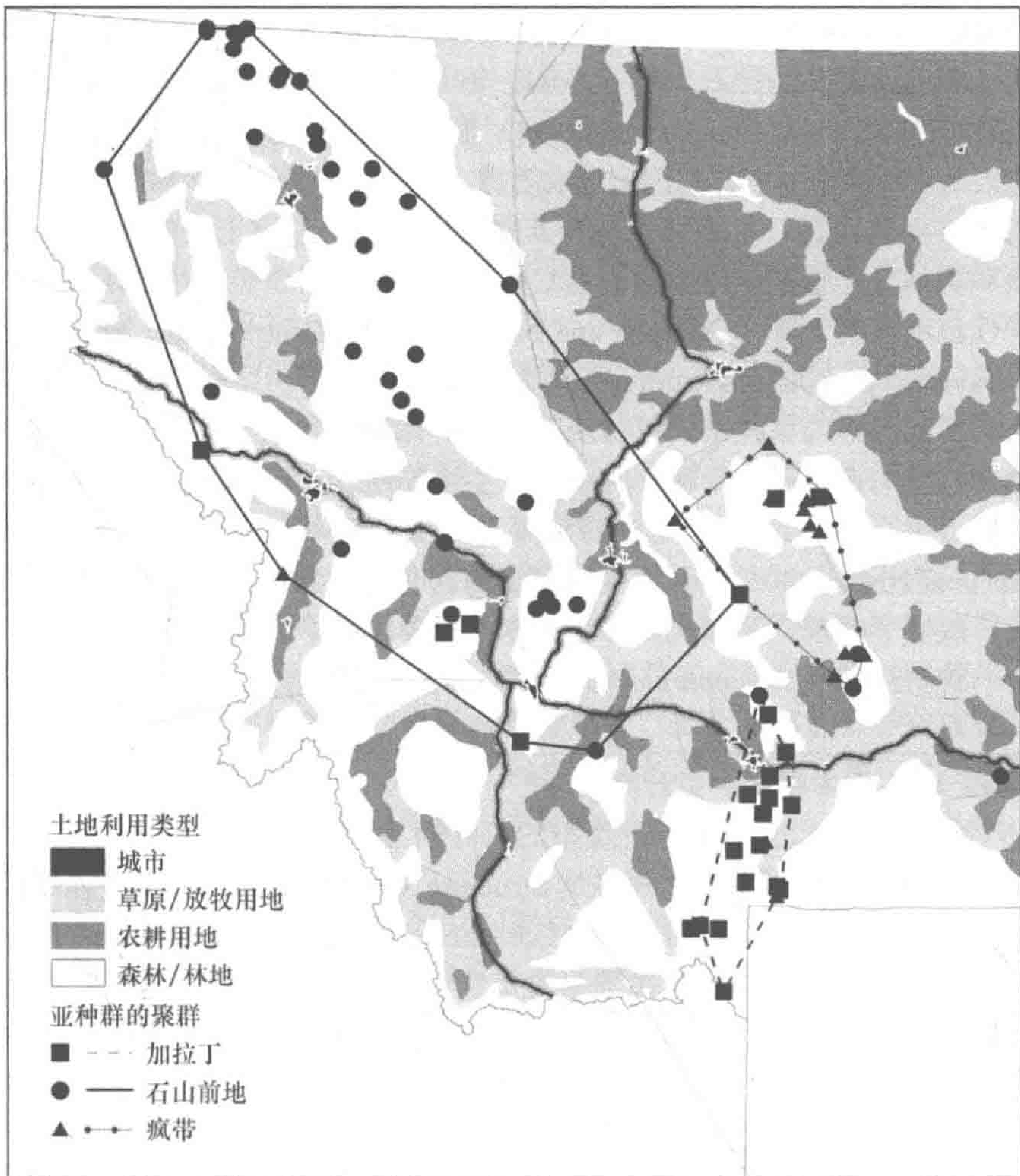


图 4.2 美国蒙大拿州地图，软件 Structure 得出貂熊个体遗传聚类与土地覆盖、主要城市及洲际公路分布的情况（引自 Cegelski et al. 2003，在出版商允许下重新绘制）

在美国犹他州、科罗拉多州、亚利桑那州、新墨西哥州进行的美洲狮（*Puma concolor*）研究发现南北群体存在不同的遗传结构（McRae et al. 2005）。这个区别的产生可能来自历史上自然因素与现代人类造成隔离障碍的联合作用。尽管南北群体之间存在着一些较窄的生境廊道，但是这些廊道被自然屏障分割导致基因流无法实现，像草地和沙漠、科罗拉多河及大峡谷等。城市和主要道路等也会对南北之间的基因流造成阻碍。

同样的，大角山羊（*Ovis canadensis*）的研究（Epps et al. 2005）、短尾猫（*Lynx rufus*）和郊狼（*Canis latrans*）的研究（Riley et al. 2006）、低地鼩鼱（*Sorex araneus*）

群体的研究（Lugon-Moulin and Hausser 2002）和西方狍（*Capreolus capreolus*）的研究（Wang and Schreiber 2001；Coulon et al. 2006），以及冬尺蠖（*Operophtera brumata*）的研究（Van Dongen et al. 1997）都显示，人类引起的生境破碎化、道路及其他人工屏障都会对群体基因流造成阻碍，并导致群体遗传多样性的快速下降。

对鱼类群体而言，水电站大坝和其他改变河流与湖泊工程的建设，对群体–基因流和群体分化带来了巨大的影响。人们发现当鲑科鱼类群体被隔离时，其遗传多样性已经出现下降（Carlsson and Nilsson 2001；Castric et al. 2001；Costello 2003；Taylor et al. 2003；Wofford et al. 2005）。

人类引起的影响可能不仅仅体现在增加群体隔离和减少基因流两个方面。在德国北部进行的焯菜属三个物种的研究（包括 *Rorippa amphibia*、*Rorippa palustris* 和 *Rorippa sylvestris*），证明了在自然界与人工环境中存在着不同模式的基因流（Bleeker and Hurka 2001），这也说明了德国西北部的景观改变，尤其是排水渠网的建设，改变了基因流的模式，并且在这些物种之间形成了许多杂交群体。这造成其中一种两栖焯菜 *R. amphibia* 物种中生态型分化的结果。

专栏 4.2　群体结构的贝叶斯推断

多种软件程序都应用了基于模型的贝叶斯方法在不需要预期定义群体的情况下推断群体结构。最常用的程序是 Structure（Pritchard et al. 2000）、Partition（Dawson and Belkhir 2001）和 Baps（Corander et al. 2003）。在群体分组数目（*K*）的不同假设前提下，都会计算出数据的似然值和不同 *K* 值的后验概率。更进一步，研究所涉及的样本在检测到的不同聚类结果中的标定概率可能会有所差异。

最广泛使用的是贝叶斯方法也存在 Structure 中，其中的模型要求考虑哈迪-温伯格平衡或连锁不平衡的存在，通过引入群体结构来尝试找到非失衡状态下（尽可能远的）群体归类（Pritchard et al. 2000）。同时，可对数据中每一个 K 值相对应的对数概率估算值 Pr（X|K）进行比较（Pritchard et al. 2000）。这使得更高可能性聚类的估算成为最可能的结果。

Evanno 等（2005）检验了当这一个样本群体的格局并非均质分布时，Structure 算法在真实探测一群样本个体中的聚类组数（*K*）的能力。研究者根据模拟数据制成了不同的模拟分布情况，发现数据对数概率的估算 Pr（*X*|*K*）并不能准确估算 K 值。而当他们使用了新的计算方式并定义了 ΔK 为连续 *K* 值的对数概率变化率时，他们能够更好地得出 *K* 值的准确数值。

软件 Structure、Partition 和 Baps 中使用的以模型为基础的算法（Pritchard et al. 2000；Dawson and Belkhir 2001；Corander et al. 2003）使得我们能够对那些很难

进行预测的群体进行研究。这些项目能够得到样本中独立的基因聚类数，但也像标定测试那样被广泛用在群体混合及杂交分析、群体迁移和扩散分析，以及对自然群体中未知遗传结构探测等方面（见 Höglund and Shorey 2003 的参考文献部分；Evanno et al. 2005）。

4.2 景观遗传学

景观遗传学是由空间统计学、分子遗传技术和景观生态学理论综合而成的学科（Manel et al. 2003；Holderegger and Wagner 2006）。这种方法将个体视为研究的基本单元，找出地理结构与环境因子对基因流和遗传结构的影响。在早期利用这种方法的研究中，人们认为苏格兰地区河流和不宜生存的环境能够阻止苏格兰的柳雷鸟（*Lagopus lagopus scoticus*）的基因流（Piertney et al. 1998）。相似的，宽大的河流和高山似乎能够阻止基因流并对白须娇鹟超种（*Manacus*）的物种与亚种的形成有积极作用（Höglund and Shorey 2004）。一些景观遗传学使用类似于上文提及的基于模型方法的算法来寻找群体结构，因此无需在开始前先提出关于群体结构的假设。这种算法与 Structure 程序算法的区别在于，景观遗传学能够基于地理因子相关的遗传数据直接推断出群体结构（Guillot et al. 2005；Holderegger and Wagner 2006）。

在景观遗传学中，群体结构的空间数据分析能够结合地理信息系统（GIS）进行，从而能更深地了解环境对遗传演化进程的影响。GIS 数据包括地形数据（即坡度、海拔和距离）、生境类型、地面湿度等。这些景观变量与遗传变异的相关关系能够定量得出，从而可被应用于分辨群体最可能的扩散路径及那些影响基因流的阻碍。

Guillot 等（2005）在这个技术之上引入了空间统计学模型，通过个体与地理因素相关的多位点遗传数据，能够判断并定位群体之间的遗传不连续性。这种贝叶斯模型包含马尔可夫-蒙特卡罗（MCMC）模拟，来推测空间模型的范围。它能够定位包括位置空间遗传结构的遗传不连续性，估算样本区域中群体的数量，量化空间依赖性程度、探测群体迁移情况及将个体归属到各原始群体中。但是，这种空间统计模型的一大缺陷在于，由于它的计算来源于真实遗传不连续性如亲缘聚类、距离引起的隔离、自交等，它并不能对空间依赖性进行独立分析。包含以上这些过程的时候，研究物种的群体数可能会被高估，尤其是当我们所研究的物种生活史性状还没有被记录或还不清晰的情况下，被高估的可能性更高。

对于大范围物种的研究，人们综合使用了景观遗传学方法和扩散距离的遗传估算来推测群体结构及野生群体间的基因情况［如西方狍（*Capreolus capreolus*），Coulon et al. 2006；水獭（*Lutra lutra*），Janssens et al. 2008］。下面列出的 5 种景

观遗传学中能够采用的主要的研究方法是：①量化景观变化和布局对观察到的遗传变异的影响程度；②分辨基因流的阻碍；③分辨出原群体的动态变化及群体的迁移路径；④了解生态过程的时空尺度问题；⑤检验物种特异性假说（Storfer et al. 2007）。

Spear 等（2005）调查了虎斑钝口螈（*Ambystoma tigrinum melmostictum*）分布区北部 10 个取样点，通过检测 8 个微卫星位点来研究群体遗传多样性及遗传结构。研究者调查了景观变化对样本区域群体遗传变异的影响过程，并使用零模型验证了多种扩散路径的假说，发现该区域内群体间基因流具有高度的位点限制性。一个地形直线模型很好地估计出一些扩散路径，包括河流的分支及穿过开放的灌木生境。尽管距离和海拔对群体差异化有明显的促进作用，但这一结果似乎支持了迁移能促进基因流的观点。这些结果在一定程度上都是令人惊讶和与预期相悖的（图 4.3）。

因此研究者预计到，通过使用踏脚石（stepping-stone）、最小成本生境（least coast habitat）或最小坡度扩散（least-slope dispersal）模型，能够最好地符合两栖类动物群体的实际情况，它们更倾向于选择湿地生境进行迁移，且尽可能避免坡度增加和海拔改变的路线（Funk et al. 2005）。但是，无论是哪种模型，都不能比直线模型更好地解释遗传数据中出现的较高变异现象。再者，虽然河流中存在捕食两栖类的鱼类而被认为能够阻碍两栖动物群体扩散的基因流，但是实际上捕食者对虎斑钝口螈的群体分化的减少起到了一定的促进作用。研究者认为观察到的河流与基因流的这种关系，可能因为采样区域是干涸的土地——河流周边的静止水体更倾向于变成干涸的环境。另一个反常的发现是，开放的生境能够促进基因流，而封闭的林区则降低基因流。这与开放区域会限制螈类群体扩散的预期完全相反（Madison and Farrand 1998；de Maynadier and Hunter 1999；Rothermel and Semlitsch 2002）。在这个案例中的开放生境绝大部分包括了早期烧荒而有植被重生的区域，而烧荒地区能够明显地促进群体的迁徙。在 GIS 和空间统计分析结合运用下形成的遗传数据为虎斑钝口螈的保护与物种管理提供了新信息。早期认为是阻碍基因流的作用实际上削弱了，而多个与人们预期相悖的促进因素也逐渐被发现。这项研究也向我们提供了一个能提高研究群体扩散能力的新方法——计划性火烧保护地从而产生开阔区域。

在对斑尾榛鸡（*Bonasa bonasia*）的研究中，我的研究团队采集了来自瑞典北部的 613 个具有地理信息的组织样本，每个样本都以 12 个微卫星位点作为基因型，来研究群体遗传结构、基因流及群体扩散（Sahlsten et al. 2008）。我们采用空间统计模型对景观遗传信息进行研究，以推测群体的数目，以及群体间遗传不连续性的空间位置。我们发现一些证明瑞典斑尾榛鸡分成南、北两个群体的迹象。但是我们却并不能找到这两个群体之间存有跟潜在地理隔离相关的任何明显的界限。

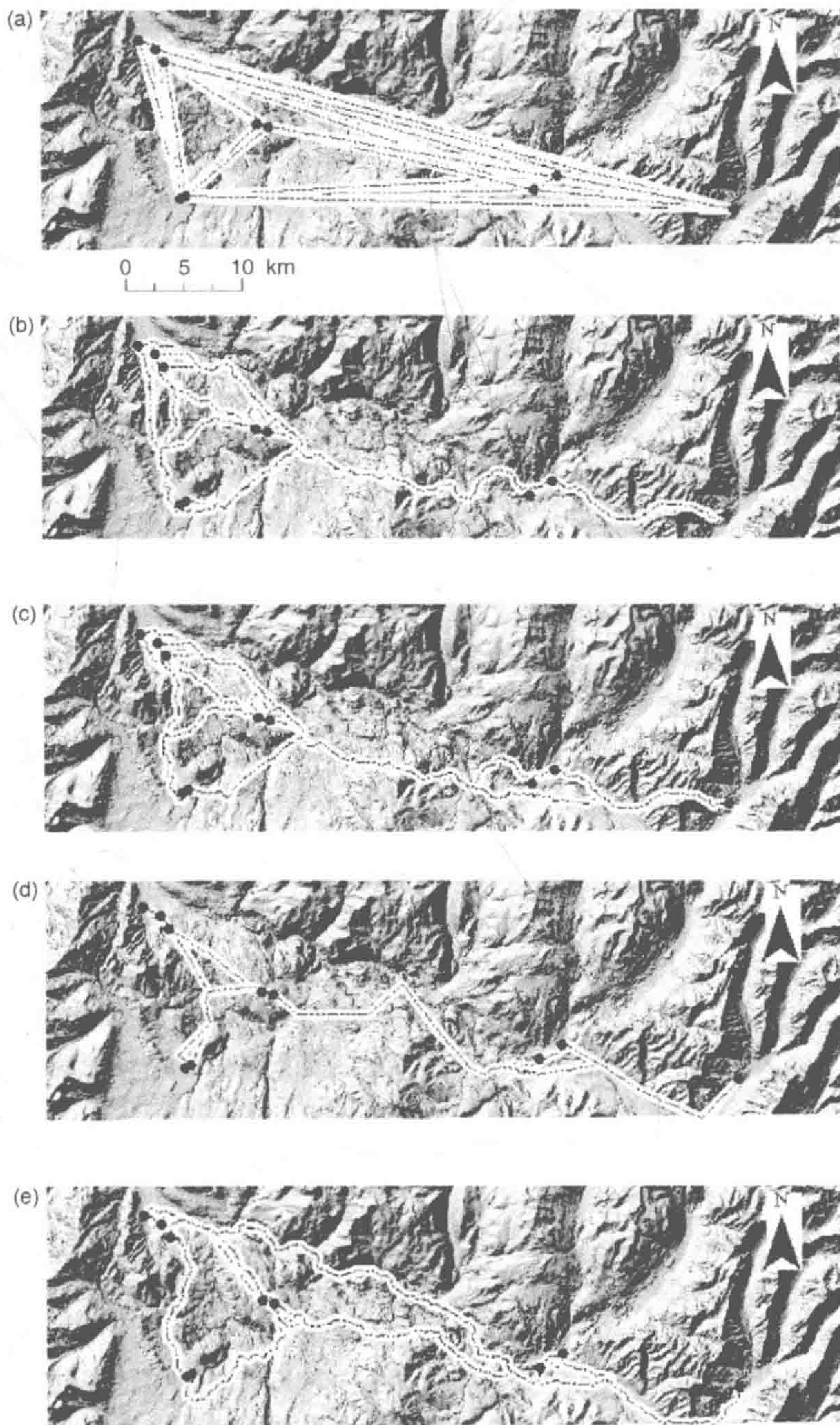


图 4.3 美国北部虎斑钝口螈基因流跨景观模拟路线地图。背景是研究区域的渲染地貌图
（a）直线模型路线；（b）湿地可能性模型路线；（c）最小坡度与湿地可能性综合模型路线；（d）步进模型路线；（e）最低坡度模型路线（引自 Spear et al. 2005，在出版商允许下重新绘制）

这些结果说明了基因流并不限于瑞典北部针叶林地区，而瑞典两个斑尾榛鸡群体的出现或许是由于斯堪的纳维亚半岛在冰期后再次受到干扰，而非近代任何阻碍基因流产生的物理阻隔。当斯堪的纳维亚半岛在冰期后恢复植被覆盖时，这种阻隔就已经出现。当时在斯堪的纳维亚半岛中部有一些内陆冰川阻隔，后来这些冰川也已经消融（除了至今依然存在的冰川外）。由于斯堪的纳维亚半岛内陆冰川的存在，恢复的植被覆盖从西南和东北两个方向同时向中部发展，因而生活在半岛上的许多物种，包括现代人类，都显示出两个遗传群体，而在瑞典中部位置存在着群体之间的联系区域（contact zone）[如棕熊（*Ursus arctos*），Taberlet et al. 1995；欧柳莺（*Phylloscopus trochilus*），Bensch et al. 2002；鼩鼱（*Sorex araneus*），Andersson 2004]。因此我们虽然不能检测到现今存在的自然或人为阻碍基因流的屏障，但却能够检测到过去地理障碍存在过的印记。

Segelbacher 等（2008）利用景观遗传学分析对德国西南部黑森林山区的西方松鸡（*T. urogallus*）群体个体遗传变异进行研究。由于人类活动造成的生境破碎化，黑森林山区松鸡在过去数十年群体急剧缩小，如今只残存零散的独立碎片群体。但是尽管这一物种整体上具有很简单的遗传结构，研究团队还是发现黑森林区域的北部群体与其他亚群体之间存在主要区分界限的迹象。而研究过程中发现这一群体历史样本之间的遗传分化程度非常低，说明目前的遗传结构是由近期生境破碎化导致的。

4.3 瓶颈效应的影响及检测

群体数量正在缩小的时候，遗传多样性将会怎样改变？前几个章节已经回顾了相关的一些实例，概括地说，我们知道遗传多样性是会下降的。但是，多样性的下降会通过多种途径对遗传变异带来不同程度的影响。最常见的现象是，处于瓶颈期的群体，其等位基因的丢失频率是快于杂合子的丢失频率（Watterson 1984；Maruyama and Fuerst 1985）。这样的差异使得我们在研究群体大小下降对遗传多样性的影响时，能够通过现存群体杂合子过量情况与等位基因频率的数据进行估算，而不需要了解过去遗传变异的情况（Cornuet and Luikart 1996；Piry et al. 1999）。通过测定在哈迪-温伯格平衡状态下预期的群体杂合度（H_e）与突变-

漂变平衡状下群体杂合度（H_{eq}）之间的差异来推算这一个过程中遗传变异的程度。对于还没有出现数量变化的群体或者那些接近突变-漂变平衡的群体来说，H_{eq}将等于H_e（Luikart and Cornuet 1998）。当群体缩小过程中等位基因的丢失比基因杂合子的丢失更快，这个缩小的群体将出现杂合子过量（H_e值偏高）的情况。我们很少连续地检测在群体大小缩减过程中受胁迫物种的遗传多样性，而连续记录在软件 Bottleneck 中是可以实现的（Piry et al. 1999）。由于通过估算单一“时刻”

位点即可检测到群体遗传多样性的丧失，这个方法非常受欢迎。但是，理论预测显示，当有效群体大小变低的时候，群体可能会重新快速建立一个新的突变和漂变之间的平衡现象（Watterson 1984）。

英国黄条背蟾蜍（*Bufo calamita*）的群体都出现不同程度上的缩小，研究人员对这些群体的微卫星基因频率数据进行了瓶颈效应测试，并将结果与统计信息进行比较（Beebee and Rowe 2001）。这些测试都能准确地辨认出发生瓶颈效应的群体，说明这个方法在解释两栖类群体数量下降时非常有用，并适用于那些缺失种群大小变化期间数据的群体。通过遗传数据检测瓶颈效应的信号，类似的例子还有对虎斑钝口螈（*A. tigrinum*，Spear et al. 2006）、日本猕猴（*Macaca fuscata*，Kawamoto et al. 2007）、稻鼠（*Oryzomys argentatus*，Wang et al. 2005）、地中海僧海豹（*Monachus monachus*，Pastor et al. 2004）、巴巴里马鹿（*Cervus elaphus barbarus*，Hajji et al. 2007）和火炬松（*Pinus taeda*，Al-Rababah and Williams 2004）的研究。

但是，对黑琴鸡（*T. tetrix*）群体的研究却显示这一种“快照”式的研究方法并不能发现群体中遗传变异的丢失。尽管荷兰的这一群体在过去 50 年间从超过 10 000 只大幅减少到不到 30 只个体，我们却没有办法利用“快照”式的方法检测到任何瓶颈的迹象（Larsson et al. 2008）。关于这个问题的一种解释是，群体在经历个体数目骤降后其杂合程度只能维持（0.2～4）N_e 代，此后一种新的平衡将会建立起来（Maruyama and Fuerst 1985；Luikart and Cornuet 1998）。在 20 世纪 50～70 年代，我们研究的群体个体从大约 7500 个降低到 1000 个，如果群体能够在这一大小状态下维持稳定，这将在 67～200 代个体中产生能被检测到的杂合子过量现象。可是，在我们采集现存群体样本前 5 年所调查到大约 20 个雄性的群体大小情况下，我们估算到保守状态下群体的有效群体大小大约是 13 [$N_e=4N_f \times N_m/(N_f+N_m)$，$N_f=20$，$N_m=4$]。这是在合理假设下的计算，我们假设只有一部分雄性个体能够在这一求偶物种中得到配对，且性比为 50∶50。如果真是这样的话，新的平衡（$H_e=H_{eq}$）就会被建立起来（$0.2 \times 13=2.6$ 代），而唯一能够确认这一群体是否经历严重遗传漂变的方法，就是与其他连续群体进行对比，或是将早期样本代入群体崩溃状态进行验证。幸运的是，在这一个例子中我们能够获得这一类的信息，通过对比在博物馆中早期经历瓶颈效应的样本所观察到的遗传多样性的，我们能够发现丹麦黑琴鸡群体基因的杂合子确实发生了丢失（Larsson et al. 2008）。

类似的，对于美国亚利桑那州东南部的旗尾袋鼹鼠（*Dipodomys spectabilis*）群体，我们已知其在近代遭受过群体的大幅缩减，但 8 个微卫星位点的遗传分析却没有检测到任何瓶颈效应的迹象。研究者将这一检测失误归因于群体的扩散，并认为如果群体发生了广泛的扩散行为，利用分子遗传数据将很难检测到群体内的瓶颈效应（Busch et al. 2007）。

学者也利用通过船舶运输到哥德洛普群岛上的大鼠（*Rattus rattus*）群体研究岛屿繁殖与奠基者效应（founder effect）（Abdelkrim 2005），并通过三种用于检测瓶颈效应的方法在这个群体中进行了验证，包括杂合子过量、众数偏移指标（Piry et al. 1999）及 M 比值（Garza and Williamson 2001）。其中，杂合子过量法和众数偏移指标方法均只能检测出两个岛上近代群体中存在的瓶颈效应。但是，利用 M 比值方法（微卫星的等位基因的数量和等位基因的分布片段范围）则能检测到所有岛屿群体上是否存在的瓶颈效应。总的来看，即便有证据显示瓶颈效应确实在发生，但依然没有研究方法能检测出效应存在，这说明我们在应用这些检测手段的时候需要特别地留意，而这些检测手段背后的假设前提也需要继续扩充。在小型群体中，新的突变-漂变平衡将会很快地被建立起来，而 H_e 和 H_{eq} 之间的差异则很快便会消失。

4.4 群体增长和分布区扩张带来的效应

如果一个群体的个体数剧增，就像群体急剧缩小的情况那样，这一群体的遗传模式将会与预期的遗传平衡有很大的不同。正在扩大的群体等位基因数将逐渐增加，并将超过相同杂合度的群体所具有的突变-漂变平衡（Maruyama and Fuerst，1984）。这种情况发生在群体在新的区域建立居群并产生正的群体增长率，以及刚刚摆脱严重瓶颈效应的群体中都很可能发生。

当一个物种被迫迁移的时候会发生什么？这是目前一个越来越受到关注的问题，主要在于气候变化被认定为未来短期内全球生物多样性的主要威胁之一（Parmesan and Yohe 2003；Root et al. 2003）。人们提出一个所谓的“气候范围模型（climate envelope model）”来预测目前生物区系可能发生的变化与灭绝情况（见 Townsend–Peterson et al. 2002；Thomas et al. 2004）。这样的模型根据当今世界上生物区系的分布，来计算气候条件下物种的分布，再根据预测的气候变化情况来推算在特定气候前提下物种的可能分布。根据未来气候范围的大小和程度，我们就能够知道局部地区及全球物种的灭绝风险。这一模型常常会得出即便是保护状态下生物多样性依然会下降的结论。

范围模型中一个隐含的假设前提是，模型所研究物种虽然被迫迁移或者分布情况发生变化，但是这一物种生存所需要的范围，或者说“生态位”是不变的。也就是说，这一模型里并不存在微演化的改变。当气候变得越来越暖和，全球范围内将发生物种、群体甚至是生态系统向两极区域扩散的情况。但物种对环境变化的响应可能由边缘群体发生的微演化响应决定（Hampe and Petit 2005）。

Hampe 和 Petit（2005）认为气候越发暖和，物种将向地球的高纬度地区扩散，而这一过程对于物种而言可能是很重要的（图 4.4）。由于奠基者效应，无论新区

域内的条件是否对群体增长有促进作用，在扩增的边缘地带常常会发生变化。此外，如果一个物种建立新的居群，这个物种与扩散和耐寒相关的性状往往会被选择而保留下来。受低纬度限制状态下的群体（末端边缘区域）遗传漂变的重要性将会增大，原因在于群体更小及更加破碎化，且群体对当地环境选择性条件如干旱等的适应将变得更加困难。在连续性分布范围的末端区域，有一个稳定的群体混合区域，一些末端避难所的不同亲缘演化的群体将发生混合。因此，这一模型能够预测遗传变化带来的不同结果，以及这一变化形成的全过程。也因为这个原因，遗传变异在前端边缘区群体之内与群体之间都保持在一个相对较低的水平，只有预先适应于扩散的基因型能够被选择保留下来。而连续分布范围中间区域的物种多样性相对适中，末端区域群体内的遗传多样性较低，但区域内的遗传多样性和群体间的遗传差异（F_{ST}）则较高。

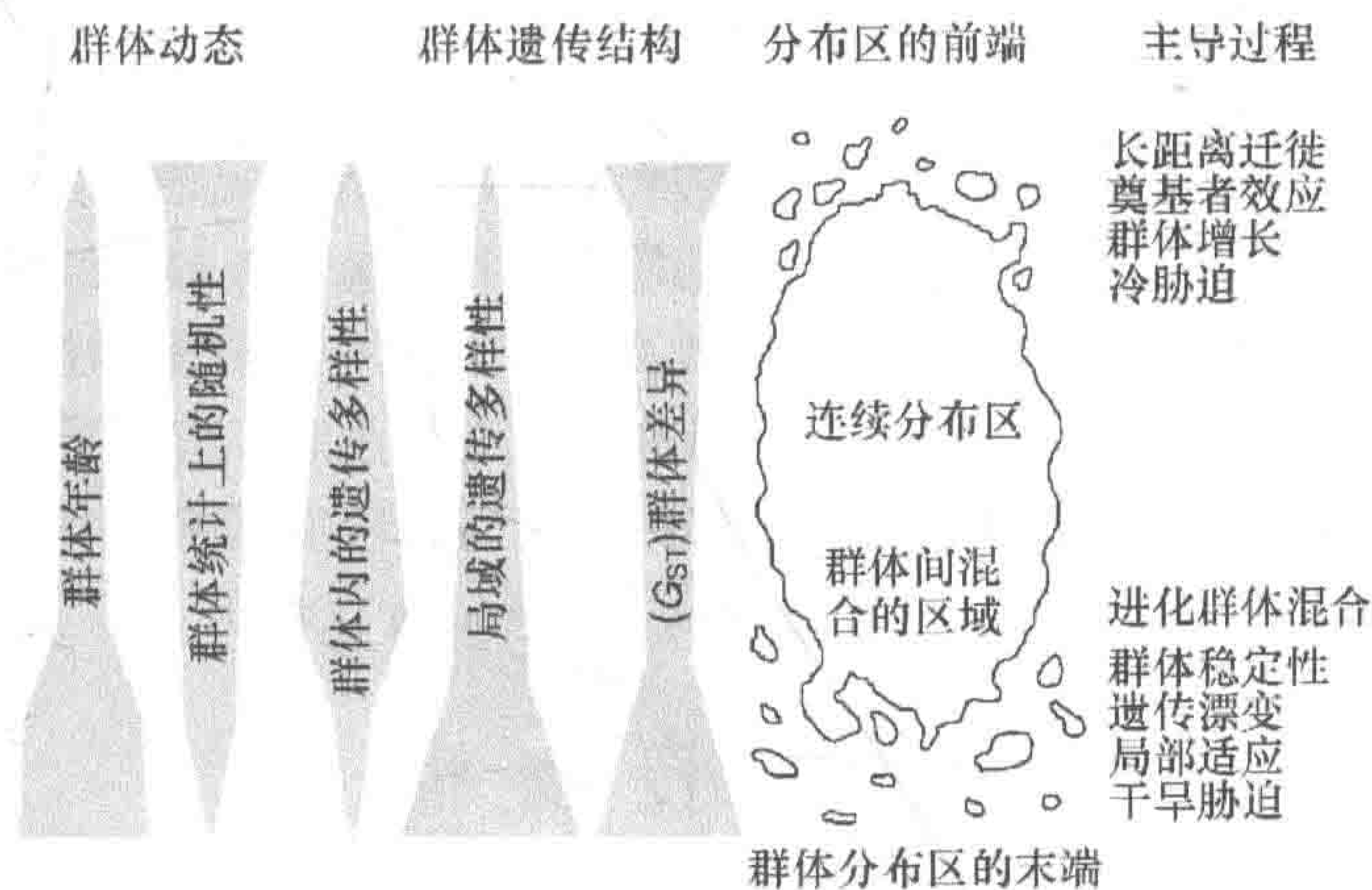


图 4.4　群体扩散的前端和末端区域的群体特征和群体过程

左边灰色区域的宽度表示与群体范围对应区域的相关重要性。G_{ST} 与 F_{ST} 相似（引自 Spear et al. 2005，在出版商允许下重新绘制）

在一个正在扩散的细疣小金发藓（*Pogonatum dentatum*）的群体中，研究者借助近年拓殖在瑞典低地的群体与该物种在山区分布的原群体进行比对，以研究其扩散区域的遗传结果。正如预期的那样，新群体的遗传变化程度更低，四个群体中有三个表现出经历了瓶颈效应，这通过群体在最近发生的奠基者效应可以推测出来。然而，新建立的群体都表现出了很高的单倍型多样性、较少的连锁不平衡现象及更少的相容性位点。这说明，性别重组在新建立群体中的影响比原群体中的影响更大。研究者提出，尽管原群体中无性生殖是主要的繁殖模式，但苔藓的孢子在一个全新的区域生长与繁殖依然具有更高的成功率。就像 Hampe 和 Petit（2005）所预测的，新建立的群体之间比原群体内具有更低的遗传差异，但他们认为这一现象的原因在于，在分布的前端边缘区域群体中具有更大量的基因流，从

而导致更多的孢子在群体之间传播。

到底什么因素决定了物种是一个优良的拓殖者？在众多的生态相关性状中，以下几个性状可能会更加受到关注：较强的扩散能力、较高的群体增长潜力、无性与有性生殖的能力，以及动物群体中杂食者（见 Newton 2003，210～212 页）。而在遗传变异方面，具有低遗传变异的小型入侵群体可能会被认为将面临与正在缩小的受胁迫群体相同的处境。但是，正如上面所讨论的，入侵群体（属于前端边缘区域）和收缩群体（属于末端边缘区域）相比较，在遗传上有很多方面的不同。对于正在扩张的群体来说，处在拓殖的亚群体如果具有更多的个体数量和更高的遗传变异的话，其入侵的成功率就会更高（Lenormand 2002）。来自不同原群体的物种对相同地区的重复侵入也可能促进新生境中的遗传变异，并影响当地的拓殖物种成为稳定群体的可能（Kolbe et al. 2004）。在这些性状中，迁移模式和迁移率、有效群体大小，以及先锋个体的数量（也就是奠基者效应）都可以通过分子标记进行评估（Estoup et al. 2004）。

由于基因流的存在与群体适应当地的环境之间具有相反的作用（见第 6 章），这可能对群体在地理上的扩张带来一定的限制（Kirkpatrick and Barton 1997）。但另一方面，基因流提高了当地群体的遗传变异，而遗传变异是群体通过自然选择出现当地适应性基因型的最基本元素。当群体变得很小时，遗传漂变的影响增大，而在这种条件下的显性作用和上位遗传模式将可能转变为额外的遗传变异现象（Cheverud and Routman 1996；Reznick and Ghalambor 2001）。

4.5 入侵物种

从讨论扩散群体到讨论入侵物种，这两个主题其实很相近。澳大利亚政府将入侵物种定义为“一个由于人类活动超出其正常分布范围，通过产生危害对重要的环境、农业或者其他社会资源造成威胁的物种”（http://www.environment.gov.au/biodiversity/invasive/）。这个定义强调了人类活动是造成入侵现象的主要因素。而其他的定义则缺少了这一个界定，比如将入侵物种定义为“对环境、人类活动或人类健康造成负面影响的外来物种”（Lee 2002）。入侵物种由于具有侵略性，入侵过程对生态多样性造成危害（见 Mooney and Hobbs 2000；Lee 2002），因此已经被认为是生物多样性的主要威胁。当然，不是所有的外来物种都有害，或是对当地植物与动物区系带来负面影响。但是，一些外来物种确实对当地生物多样性带来了严重的威胁。那么，是什么因素使得一些物种变得具有“侵略性”而另一些物种却没有？在植物中，我们已经知道在当地生长的植物为了对抗如食草动物或其他竞争者而与其天敌动物发生了协同演化。对于变成了有害物种的植物而言，可能仅仅是一种巧合并使之能够从这些天敌之中凸现出来，而这样的结

果就是它能够不受约束地生长繁殖。天敌逃逸假说因而能够解释一些植物在分布上的快速扩散和丰富度上的快速提升。

物种入侵层面的演化研究在过去众多研究中一直被忽视（Mooney and Cleland 2001；Lee 2002）。但是，近期的研究发现了一些证据显示，相对于生理耐受或者表型可塑性，入侵物种的成功侵入更依赖于在其对于自然选择的应对能力（Lee 2002）。Lee（2002）的研究论文强调了两大发现：基因之间上位基因的相互作用可能对物种在入侵过程中的适应性有一定作用，一小部分的基因可能对入侵过程的成功与否有很大的影响。

最有名的入侵物种可能就是甘蔗蟾蜍（*Bufo marinus*），这也毫无疑问是遗传学上最广为人知的一个例子。这一物种在 1935 年从它的原生地——南美洲中东北部的一系列岛屿进入澳大利亚（Easteal 1981；Lever 2001）。在澳大利亚，它迅速繁殖并至到现在依然不断扩张着其分布区（图 4.5）。目前研究主要通过借助微卫星与等位酶标记技术，分析这一物种自 1960 年开始在澳大利亚两大区域的扩张历史（Estoup et al. 2001，2004）。利用遗传数据在基于多种群体统计模型的贝叶斯方法中多次模拟后推断，有效迁移个体的数量远低于两个扩张区域中的建群者数量（Estoup et al. 2004）。

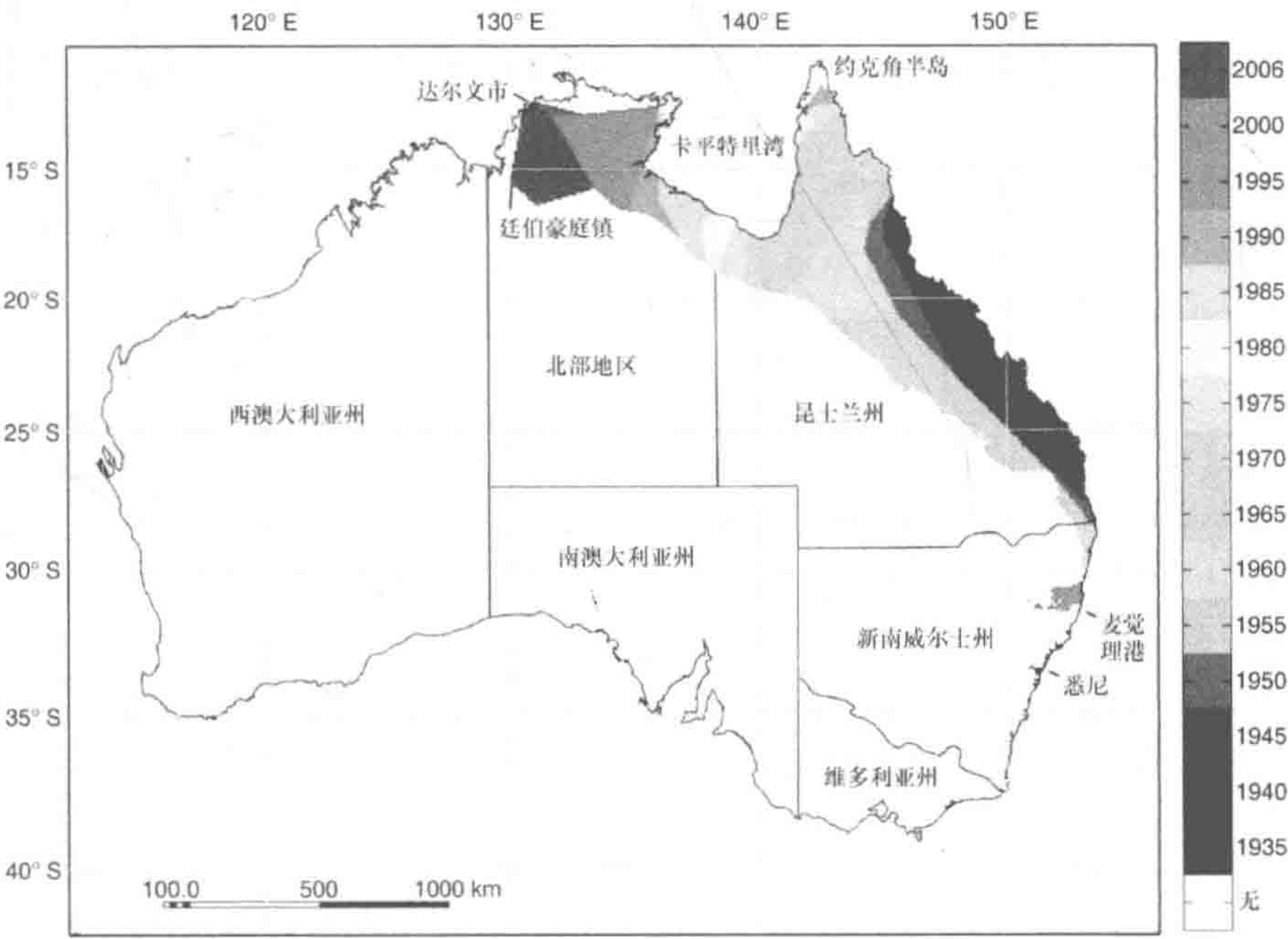


图 4.5　大蟾蜍在澳大利亚分布区域在每 5 年内增长变化地图（2000～2006 年间以 6 年为一个统计区段）

图中标出主要城市及地理要素（引自 Urban et al. 2008，在出版商允许下重新绘制）

甘蔗蟾蜍的出现对澳大利亚地区的生物多样性带来了非常不好的影响（Phillips et al. 2003）。有证据显示两个入侵区内的甘蔗蟾蜍群体和它们所影响的生物区系都发生了演化上的改变。在侵入过程中，甘蔗蟾蜍的形态发生了改变，腿长值相对增大，可能是形态对于迁移速度选择下的一种响应（Phillips et al. 2006a）。此外，两种存在张口角度限制的蛇类演化出更小的角度，以防止捕食带毒性的甘蔗蟾蜍个体（Phillips and Shine 2004）；发现来自甘蔗蟾蜍出现地区的澳洲黑蛇（*Pseudechis porphyriacus*）对蟾蜍毒性有逐渐提高的抵抗能力，它们对以蟾蜍作为猎物的偏好性则出现了下降（Phillips et al. 2006b）。

阿根廷蚂蚁（*Linepithema humile*）是南美洲的本土物种，并在全球范围内有广泛的分布。在美国和新西兰，阿根廷蚂蚁在引入地表现出与原产地不同的社会行为。在引入这一物种的区域，各个蚂蚁聚群由许多建群个体建立，因而聚群之间表现出非常广泛的遗传相似性。在美国，巢穴之间的遗传相似性比阿根廷原产地的群体要高的多，而且聚群内个体亲缘度则更低；相反在阿根廷原产地内的聚群之间存在着明显的遗传差异但巢内部的亲缘度则较高（Tsutsui and Case 2001）。新西兰的阿根廷蚂蚁群体也同样具有低水平的遗传变异，且在聚群之间没有任何群体差异或距离引起的遗传分化的迹象（Corin et al. 2007）。本土区域与引种区域的差异表现在这一物种行为上的改变。在引入该物种的区域，蚂蚁个体之间的攻击性较弱，行为的改变被认为是促进阿根廷蚂蚁在该区域内入侵和扩散的重要因素之一。这些研究显示，物种在入侵到新的分布区之后可能会产生新的群体遗传特征，这些特征有时是物种原产地的研究结果无法预测的。

4.6 结　　论

这一章我们谈了一些环境变化所导致的遗传结果。这些变化往往是非常迅速的，以至于我们在当代群体中很难发现遗传平衡的存在。而人类引起的生境破碎化也经常导致已经片段化的群体出现更复杂的情况，如群体大小和连续性的差异。幸运的是，人们研发了一系列的分析工具，可以用来检测群体结构、基因流，以及在这一复杂状态下的演化情况。此外，这一章也展示了在变化环境中，许多物种都有快速的演化以响应环境变化的实例。导致这种变化的原因有很多，如生境丧失和破碎化、扩散的障碍，以及由此产生的基因流、气候变化，还有入侵物种的引入等。

5 受选择作用的基因：*Mhc* 基因和其他相关基因

群体分子遗传学领域内的研究人员出于各种各样的原因，传统上习惯使用中性分子遗传标记来研究演化的进程。这一类分子遗传标记不受选择的影响，因而能够对变异、重组、遗传漂变及迁徙行为对群体内外遗传多样性影响的程度与意义作出估算。然而，发生在中性位点的变异并不能直接提供关于选择过程的信息，包括个体与环境间的相互作用以及未来进行适应性变化的能力（Meyers and Bull 2002；van Tienderen et al. 2002；Sommer 2005）。自然群体内保持并促进适应性的遗传多样性的机制是演化生物学和保护生物学中的核心内容（Orr and Coyne 1992；Hedrick 2001；Boake 2002；Sommer 2005）。研究适应性的遗传多样性在时间和空间的分布，能够为我们研究群体如何在全新的或不断改变的环境中表现其适应性，以及研究群体在遗传多样性丧失到何种程度上容易走向灭绝提供了更深入的了解。而这一研究适应性的遗传多样性在时间和空间的分布的努力尝试，需要我们对构成自然群体中适应性表型基础的编码基因及其调节机制有一定的了解。

遗传多样性通过中性分子遗传标记进行预测的现状，一部分原因来自于我们难以找到非模式生物的编码位点。在过去，学者们往往会假定中性变异与适应性变异是相关联的（Hedrick 2002）。尽管这种关系在某些时候是存在的，但是中性和适应性变异二者间的关系通常都非常微弱（Hedrick 2001），甚至有些时候会不存在（如 Madsen et al. 2000）。

这一章将讲述在选择条件下的基因情况，其中关于 DNA 水平上“环境相关”的遗传变异主要来自于对主要组织相容性复合体基因（major histocompatibility complex，*Mhc*）的研究。这一基因家族编码参与脊椎动物免疫抗性的细胞表面蛋白质。在这一个研究领域内有相当多出色的综述文章，我将简要地回顾与抗寄生性相关的 *Mhc* 位点选择的相关实例，以及 *Mhc* 位点上丢失的遗传变异序列。由于并不是所有免疫相关的基因都属于 *Mhc* 基因家族，以及越来越多的学者认同免疫生态研究中应该包括其他免疫基因的研究（Acevedo-Whitehouse and Cunningham 2006），在本章的最后，我将介绍其他相关的基因。与保护相关的例子，包括调控动物色素沉淀的基因（如 *mlcr*）和 *clock* 基因（参与光周期调控）。

5.1 *Mhc* 基因

2006 年，Piertney 和 Oliver 指出“我们对于自然群体如何通过选择保留适应性的多态现象的认识，基于对小部分关键基因区域的了解，如主要组织相容性复合体基因（*Mhc*）”。过去数十年这个基因家族在模式生物和非模式生物中被广泛研究（见 Brown and Eklund，1994 的综述；Apanius et al. 1997；Edwards and Hedrick 1998；Jordan and Bruford 1998；Penn and Potts 1998，1999；Tregenza and Wedell 2000；Zelano and Edwards 2002；Bernatchez and Landry 2003；Garrigan and Hedrick 2003；Mays and Hill 2004；Ziegler et al. 2005；Piertney and Oliver 2006；Sommer 2005）。

Mhc 基因家族是研究适应性的遗传多样性的最好对象之一，因为该家族拥有大量的多态性及明显的生态学相关性。*Mhc* 基因编码的一类细胞表面蛋白（class I）被发现存在于所有类型细胞，并可以结合由细胞内抗原（如病毒）产生的抗原决定簇，将其暴露在这些细胞的表面（图 5.1）。MHC 二类蛋白分子只在特定免疫细胞中被发现，如能够吞没胞外寄生物的巨噬细胞，并能与这类胞外病原体产生的抗原决定簇结合。结合后的复合物能够被帮助细胞（helper cell）识别并诱发 B 细胞产生特异性抗体。在这个过程中，MHC 二类蛋白分子参与了 B 细胞与 T 细胞之间的信号传递。因此，这两类蛋白分子在促发适应性免疫反应中有重要作用，进而我们可以认为在个体适合度和 *Mhc* 基因之间有直接的联系。再者，脊椎动物 *Mhc* 基因在单一位点中拥有 500 多个等位基因，是人类基因中所发现具有最多变异性的位点（Robinson et al. 2003）。

脊椎动物不同物种的 *Mhc* 基因在大小和结构上有相当的差异。在人类基因组中，*Mhc* 复合体包含了 421 个基因座（Horton et al. 2004）。在家鸡基因组中，基因的传统区域（BF/BL）则小得多，只有大约 20 个基因，因而有些时候会被视为 *Mhc* 的最本质部分（Kaufman et al. 1999；Kaufman 2000）。由于 MHC 结合广泛病原体类群的能力与编码抗原结合位点的等位基因序列高度变异相关（Doherty and Zinkernagel 1975），这种高水平的多态性可能通过平衡选择所导致的杂合子或稀有等位基因优势而保存下来（Takahata and Nei 1990）。此外，MHC 的杂合子偏好（Landry and Bernatchez 2001；Penn 2002；Zelano and Edwards 2002；Milinski 2006），以及对哺乳动物产前胎儿的不兼容性（Ober 1999），都能够对 *Mhc* 基因极端水平多态现象的维持起到一定的作用。

一种研究 *Mhc* 基因座上发生选择的方法已经被用于发现当代个体中的平衡选择。这一方法所使用的工具被发现偏离了哈迪-温伯格定律、孟德尔定律及随机连锁的预期（Garrigan and Hedrick 2003）。同时，也研究了基因型与个体暴露在特

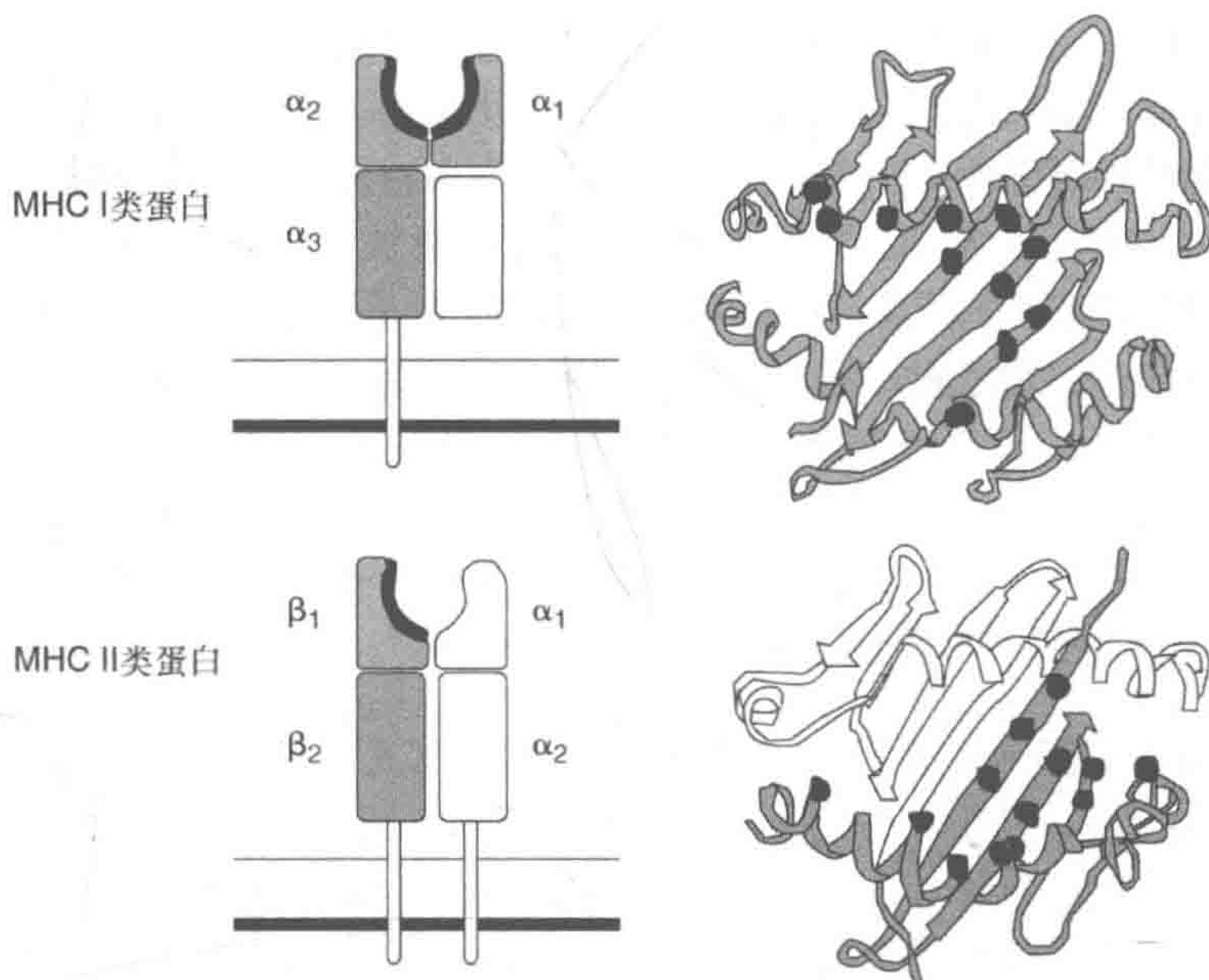


图 5.1 MHC 一类蛋白与二类蛋白分子模式图

左半部分为蛋白分子侧视图，下方线条示意细胞表面，抗原结合位点表示分子上的黑色区域部分，α 和 β 链的大致位置如图中表示。右半部分为蛋白分子俯视图，黑色点状区域为抗原结合位点

定环境中相关适应性之间的关系。特定的 *Mhc* 等位基因与个体的抗病能力和染病能力之间的关系被发现存在于一些物种之中，包括人类（Sommer 2005）。纵观整个演化过程，当我们关注 *Mhc* 基因的演化时，最常用的方法就是去测定非同义突变与同义突变在编码这个蛋白质的 DNA 序列中的比率（d*N*/d*S*）。关于 *Mhc* 基因的变异有两个假说，均引入了平衡选择的概念。一种是杂合子优势假说，另一种则是针对寄生物和病原体发生的频率依赖型选择（见 Penn and Potts 1998 综述；Hedrick 2002）。尽管现有的证据似乎更倾向于频率依赖型选择（Sommer 2005；Hedrick 2006），但就目前而言，关于这两种假说哪种更加重要，还没有任何共识。两种机制都能够解释为什么 *Mhc* 基因的多样性总维持在很高的水平，即使用中性标记测量的、存在遗传漂变引起遗传多样性丧失的物种群体中也依然是这样（如 Aguilar et al. 2004；van Oosterhout et al. 2006）。

通过上文的描述我们应该能清楚地认识到，在病原体对 *Mhc* 基因多样性维持上发挥的具体作用方面，学界对此依然存在着争议，并需要更多深入的调查研究（Penn 2002；Zelano and Edwards 2002；Milinski 2006；Piertney and Oliver 2006）。为了解释这个问题，我们需要从非模式生物中分离 *Mhc* 分子标记。但是直到目前为止，这项工作依然被不同物种间 *Mhc* 结构的多样性所限制。鉴于不同物种在功能与非功能 *Mhc* 基因的数量上差异很大，预先了解所研究物种中 *Mhc* 基因有多少

重复位点，以及这些位点有无表达，显得尤其重要（Strand et al. 2007）。不充分的认识将可能导致错误的结论，如假基因的变异是否与生态因子相关等。因此，我们需要了解自然群体中的 *Mhc* 基因多样性是如何被选择与被保留的。探讨 *Mhc* 基因多样性，或者说 MHC 蛋白表达图谱与状态参数（和配对几率）的关系的研究，在近期的 *Mhc* 研究论文，以及哺乳类、鸟类、鱼类等研究中经常出现（Piertney and Oliver 2006）。为了更好地认识这类相互作用关系，*Mhc* 基因，而不是常规研究 MHC 二类蛋白的编码基因，应该作为研究的目标（Acevedo-Whitehouse and Cunningham 2006）。

5.1.1 *Mhc* 基因与哺乳动物保护

MHC 第一次被发现是在 20 世纪 50 年代的一次关于人类皮肤移植免疫排斥反应的研究中。此后，MHC 与免疫的关系很快便被查清，至今已找到这一个基因复合体内的超过 420 个基因，其中 252 个基因有表达。这 252 个表达基因中，有 70 个基因与免疫反应有潜在联系（Beck and Trowsdale 1999）。在人类之中，*Mhc* 基因在 6 号染色体上，但却调控着位于其他染色体上的基因（Reith and Mach 2001）。人类个体 *Mhc* 基因的结构和组成似乎与近缘物种非常相似，如类人猿的基因。而人类与大猩猩的基因组内也有部分相同的等位基因。这一跨物种的表型多态性在许多哺乳动物之间十分常见（Klein et al. 1998；Garrigan and Hedrick 2003），其原因被解释为受长期具有变异的平衡选择的影响。因此，通常情况下最相似的 *Mhc* 基因序列并不在同一个物种内，而是在相邻的物种中（Hedrick 2006）。在偶蹄类动物中，平衡选择（balancing selection）可能为等位基因谱系的维持提供了长达 2000 多万年的保障（Gutierrez-Espeleta et al. 2001）。

Mhc 位点在种内发生的遗传变异可能与其他中性位点发生变异的水平相似，也可能因为受到曾经发生的平衡选择而超出其他中性位点发生的变异水平（第三种可能性，即中性位点变异超出 *Mhc* 位点变异的情况，据我所知迄今为止并没有被观察到）。而也有人借助历史群体事件的说法来解释河狸（*Castor fiber*）的瑞典群体和驼鹿（*Alces alces*）只保留少数 *Mhc* 等位基因的情况（Ellegren et al. 1993，1996；Mikko and Andersson 1995；见 Sommer 2005 中的相似例子；见 Babik et al. 2005 中更多关于欧亚河狸低 *Mhc* 多样性的内容）。在这种解释的前提下，瓶颈效应与奠基者效应强于引起如今 *Mhc* 变异情况的选择效应。在这些例子中，降低的 *Mhc* 多态性由此与全基因组遗传变异的下降有关（Hedrick 2002）。非洲猎豹（*Aconyx jubatus*）是低 *Mhc* 多态性与低全基因组多样性之间关系研究的最好例证。这一群体出现低全基因组多样性的现象可能是发生在 10 000 年前群体瓶颈效应所致（O'Brien et al. 1985）。然而，关于这个案例的细节依然存在争议。另外一个著

名的实例，是关于北象海豹（*Mirounga angustirostris*），这一群体在数百年前的人类狩猎行动中几乎灭绝。据推测，这个物种只具有很少的中性等位酶、线粒体基因、小卫星和微卫星位点，以及适应性相关的二型 *Mhc* 遗传变异（Heolzel et al. 1999；Weber et al. 2004）。

也有其他的案例（Sommer 2005 的综述）显示 *Mhc* 多样性能够维持至少一段时间，尽管物种后期遭受了大规模基因变异丢失的情况。虽然在自然群体中证明病原体引起的群体下降和低 *Mhc* 变异之间的关系十分困难（Guiterrez-Espelata et al. 2001），但是近期有研究显示，尽管 *Mhc* 等位基因数在许多瓶颈效应物种中很低，但却依然能够观察到高水平的等位基因之间的差异。并且在受威胁群体和碎片化群体中，抗原结合位点的遗传多样性远高于其他 *Mhc* 密码子多样性（Sommer 2005）。

总的来说，尽管由研究显示物种能够在完全没有 *Mhc* 变异的情况下维持至少一段时间（Ellegern et al. 1993，1996；Mikko and Andersson 1995），但许多关于哺乳动物的研究暗示了保护中 *Mhc* 遗传多样性的重要性（Sommer 2005 的综述）。群体在受到严重的人类影响条件下 *Mhc* 遗传多样性的情况至今没有完整的研究。理论上，人们预期将会出现一种在基因型与环境之间的相互作用，当环境温和时，低的遗传多样性并不会导致物种的灭绝；而当环境变得不利时，比如因人类引起的污染与栖息地破碎化等情况，低的遗传多样性将对群体产生不利的影响。

5.1.2　*Mhc* 与鸟类保护

目前已知鸟类的 *Mhc* 基因组结构绝大多数来自对家鸡（*Gallus gallus*）的研究（Zoorob et al. 1993；Kaufman et al. 1999）。虽然关于其他鸟类物种基因组的研究还在进行，但是我们更需要一种针对鸟类 *Mhc* 基因组的比对研究。鸟类 *Mhc* 基因家族与哺乳动物 *Mhc* 基因家族的主要区别在于独立的两个基因聚类，即 B 区和 Y 区（正式说法为 Rfp-Y 区）（Miller et al. 1996）。这两个基因区都位于家鸡 16 号小染色体，并都有编码 *Mhc* 一类与二类蛋白的基因（Miller et al. 2004）。B 区基因具有多态性且在体内表达（Goto et al. 2002），并被发现其表达与家鸡对多种基因的抗性相关（Kaufman 2000）。

在家鸡和一些其他鸟类物种内有两种表达二类蛋白的 B 区基因（Freeman Gallant et al. 2002），但是 B 区中一类与二类蛋白基因在其他物种中的数量可能存在一定的差异（Westerdahl et al. 2000）。Y 区基因则了解甚少。迄今为止，人们发现家鸡中至少有一个 *Mhc* 一类 Y 区位点（YF）有表达，且可能与家鸡免疫功能有关（Hunt et al. 2000）。然而，我们还不清楚 *Mhc* 二类 Y 区（YLB）基因在家鸡中是否承担一定的功能，因为目前所有 YLB 位点都位于明显的假基因所在区段

（Shiina et al. 2006）。*Mhc* 二类 B 区基因（BLB）和 YLB 基因只在家鸡（如 Miller et al. 1996）和黑琴鸡（*Tetrao tetrix*）（Strand et al. 2007）中有所发现，在雉鸡（*Phasianus colchicus*）（Wittzell et al. 1996）和其他鸟类中也似乎存在 *Mhc* 二类 B 区基因的变异。对于潜在 YLB 基因的研究将在整体上提高我们对 *Mhc* 基因受选择与演化的认识。到目前为止，除了关于黑琴鸡的研究外（Strand et al. 2007），对非模式鸟类物种 *Mhc* 二类基因的研究都关注于 BLB 或与 BLB 相似的基因(表 5.1)。

表 5.1　鸟类非模式生物中 MHC 研究举例

研究物种	基因	主要发现	参考文献
家麻雀（*Passer domesticus*）	*Mhc* I 类	与抵抗疟原虫有关	Bonneaud et al. 2004，2006
齿鹑（*Colinus virginianus*）	B 区基因的单倍型	发现了基因的多态性	Drake et al. 1999
红翅黑鹂（*Agelaius phoeniceus*）	*Mhc* II 类 B 区基因和其假基因	发现了功能基因的多态性	Edwards et al. 1998，2000
斑腹沙锥（*Gallinago media*）	*Mhc* II 类 B 区基因	发现了基因的多态性	Ekblom et al. 2003
稀树草鹀（*Passerculus sandwichensis*）	*Mhc* II 类 B 区基因	发现了基因的多态性	Freeman-Gallant et al. 2002
夏威夷蜜旋木雀（Drepanidinae）	*Mhc* II 类 B 区基因和其假基因	发现了功能基因的多态性	Jarvi et al. 2002
新西兰岩鸲鹟（Petroicidae）	*Mhc* II 类 B 区基因	转录的基因	Miller and Lambert 2004
苇莺类（*Acrocephalus*）	*Mhc* I 类	基因的多态性存在于近交和远交的群体中	Westerdahl et al. 1999，Richardson and Westerdahl 2003
白腰文鸟（*Lonchura striata*）	*Mhc* II 类 B 区基因	验证了部分位点的存在	Vincek et al. 1995

有多个研究表明 BLB 基因在濒危物种保护上的重要性。只分布在新西兰查塔姆群岛的查岛岩鸲鹟（*Petroica traversi*）是一种高近亲繁殖、低遗传变异的濒危雀形目鸟类物种。Miller 和 Lambert（2004）研究了查岛岩鸲鹟和它不濒危的近缘物种南岛岩鸲鹟指名亚种（*Petroica australis australis*）的 *Mhc* 二类基因的差异。为了研究 *Mhc* 基因是否受到平衡选择的影响，他们还比较了南岛岩鸲鹟受到人为影响的瓶颈群体和对应源群体（即有效群体较大）条件下 *Mhc* 基因的变异。他们发现，在二类 B 区位点的研究中，查岛岩鸲鹟没有多态性，而南岛岩鸲鹟源群体与发生了瓶颈效应的群体则保持有合适范围的变异情况。因此可以得出，在查岛岩鸲鹟群体中遗传漂变的发生必然高于平衡选择的发生，从而导致这一个群体更容易受到新入侵病原菌的感染。

夏威夷蜜旋木雀的辐射扩散与物种形成是一个教科书般的范例，然而这一类群目前却是全球面临最高灭绝率的物种之一。夏威夷群岛上鸟类疟疾病原体的出现被认为是导致蜜旋木雀灭绝的主要原因。Jarvi 等（2004）研究了蜜旋木雀 4 个物种 *Mhc* 二类基因的变异情况。系统发育分析揭示这些基因可以聚类为两支，其中一支表现出极高的多样性，符合 d*N*>d*S* 的条件，且其多样性水平与其他鸟类

Mhc B 区基因研究的结果相当。而另一聚类的基因则几乎是稳定不变的，就像上文提到的在家鸡和黑琴鸡中 Y 区基因的研究结果一样。在蜜旋木雀的研究中，种间的多态性以及推测的抗原结合位点密码子的高 dN/dS 比值支持了平衡选择的作用，当对其中两种物种进行比较时发现，线粒体控制区序列在一种蜜旋木雀中相当保守而在另一种中则表现出高的多样性，而 *Mhc* 二类 B 区基因的多样性在两者间十分相似。因此该研究结果表明，尽管蜜旋木雀遭受了很强的瓶颈效应的影响，平衡选择也能够发挥足够大的效力以保持这一物种中 MHC 蛋白的多样性。

在加拉帕戈斯群岛上生活着当地特有的加拉帕戈斯企鹅（*Spheniscus mendiculus*），这是目前为止发现生活在赤道上的唯一企鹅物种。它们的生存依赖于洪堡河（Humboldt river）高营养的上升水流所带来的食物，但却遭受着因无规律厄尔尼诺事件引起的海洋温度上升而导致的群体数量急剧下降，伴随着的遗传多样性下降很可能正是由厄尔尼诺带来的瓶颈效应所引起。Bollmer 等（2007）描述了加拉帕戈斯企鹅中 *Mhc* 变异数的情况，并与其他企鹅群体的已公布数据进行比较。他们发现加拉帕戈斯企鹅在所有 8 种被研究的企鹅物种中具有最低的 *Mhc* 多样性，并认为平衡选择可能对该企鹅 *Mhc* 发生作用，进而导致了一种跨物种演化模式和过量非同义突变的出现。因此，这一个案例也和蜜旋木雀的例子非常相似，即尽管丧失了中性位点的变异，但却能维持 *Mhc* 的多样性。

在我自己的研究团队也进行了关于受威胁的涉禽斑腹沙锥（*Gallinago media*）的 *Mhc* 研究中，我们发现了这一物种中具有非常高数量的 *Mhc* 等位基因（175 个个体中有 50 个；Ekblom et al. 2007）。同时，该物种基因中肽结合位点也表现出高频率的非同义替换突变，特定基因区域中也表现出高水平的 Tajima's *D* 值。以上三点说明了这个物种在历史上曾经发生了平衡选择（Ekbolm et al. 2008）。再者，经具有统计学意义控制的选择效应下对微卫星中性变异处理后，我们研究了两个受到环境因素被隔离的局部物种（生活在斯堪的纳维亚山脉中的群体与东欧低地群体）的 *Mhc* 基因分化（图 5.2），结果说明空间选择差异产生了相应的群体遗传结构，并由此引起了平衡选择。斑腹沙锥群体中的 *Mhc* 变异也因此可以被视为物种对局部不同环境适应性的一种表现模式。如果这种模式是普遍的，那它对于动物保护而言将具有重要的意义，因为它说明当地群体将可能适应于当地的寄生生物，而这种情况下如果开展跨区域的个体引入，将不会对该物种带来任何好处。

还是那句话，正如哺乳动物的案例一样，鸟类研究中关于丧失 *Mhc* 变异的保护努力依然是模糊不清的。上文中提到的岩鸲鹟，即使物种只具有极少的 *Mhc* 变异，它们的群体依旧能够维持生存。而对其他并未经历严重瓶颈效应的物种案例研究中，尽管有效群体大小在历史上和现在都有减少的迹象，平衡选择似乎都支持 MHC 的变异出现。以后的研究应该关注于解决群体是否能够在 *Mhc* 变异减少的条件下维持生存的问题。理论上这似乎只是时间的问题，我们只需要等到这些

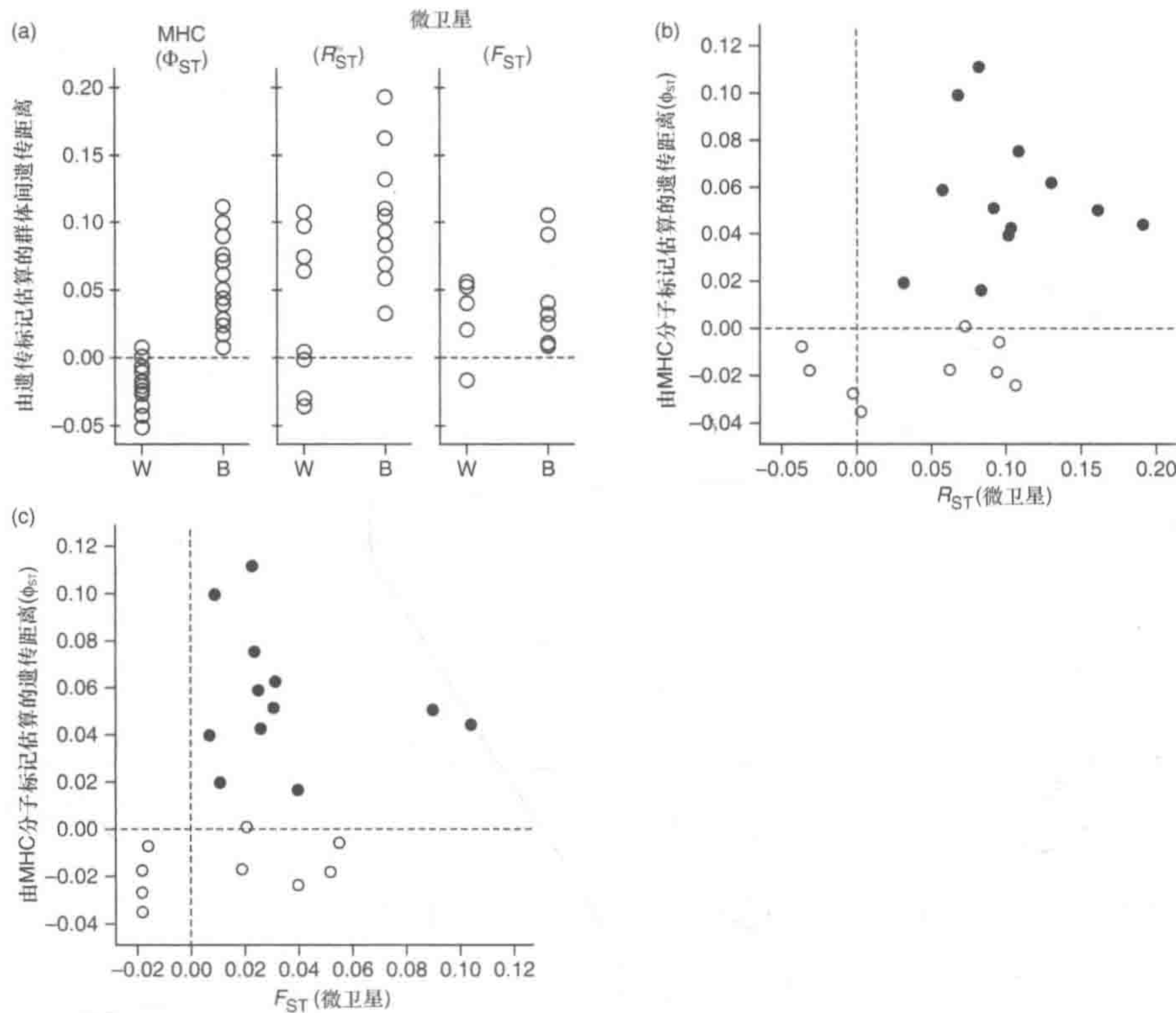


图 5.2　各点表示同一区域（W）与不同区域（B）每两个群体间 *Mhc* 二类基因与微卫星位点的遗传距离（F_{ST}）

不同分子标记对应于不同的 F_{ST} 估量（Φ_{ST} 对应于 *Mhc*；R_{ST} 与 Weir-Cockerham F_{ST} 对应于微卫星位点）。来自不同区域的群体之间 *Mhc* 样品比相同区域内群体的值更高，也更高于不同区域（实心圆）与相同区域（空心圆）微卫星位点两两比对得到的预期（b，c）（引自 Ekblom *et al.* 2007，在作者允许下稍作改动）

Mhc 变异数正在下降的群体受到它们无法对新病原体的感染产生免疫应答与防御，我们便能得到答案。但倘若这种情况真的发生了，这一类群的物种将必然走向灭绝。

5.1.3　*Mhc* 与两栖爬行类动物保护

对于爬行类动物中 *Mhc* 的结构与变异情况我们知之甚少，因为研究很少。但是对于爬行动物分子系统分类却很多，比如前人对鳄鱼到喙头蜥（*Sphenodon punctatus*）都开展过广泛的研究（见 Edwards et al. 1995；Miller et al. 2005）。到目前为止，还没有一个关于任何爬行类物种的完整基因图谱。相似的，我们对两栖动物 *Mhc* 变异和演化模式也没有多少了解，而两栖类是全球公认数目下降非常快的一类动物，造成群体下降最可能的原因便是真菌性疾病（Daszak et al. 1999；

Pounds et al. 2006），因此一旦我们了解两栖类动物 *Mhc* 的有关信息，我们就能够设计出保护两栖类动物合适的计划与方法。*Mhc* I 类与 II 类基因在有尾目的两个物种内已经被研究描述，包括墨西哥蝾螈（*Ambystoma mexicana*）（Sammut et al. 1997，1999；Laurens et al. 2001；Richman et al. 2007）与虎斑钝口螈（*Ambystoma tigrinum*）（Bos and DeWoody 2005），以及在无尾目的模式类别爪蟾属中有所研究（Ohta et al. 2006）。由于爪蟾属的模式物种爪蟾（*Xenopus leavis*）是多倍体生物，所以爪蟾属的基因图谱绘制主要关注相近的二倍体物种非洲爪蟾（*Xenopus tropicalis*）。对于这一个物种，我们已经了解了其包含有 *Mhc* 基因的完整基因图谱（Ohta et al. 2006）。有研究指出，爪蟾属中 *Mhc* 基因在演化上表现出很高的保守性，而且对所有的 *Mhc* 基因家族的研究结果都表明它们的关系十分紧密（Flajnik et al. 1999）。

一项早期的研究比较了捷蜥蜴（*Lacerta agilis*）与极北蝰（*Vipera berus*）之间 *Mhc* 基因，以及中性分子标记小卫星与微卫星变异结果（Madsen et al. 2000）。在这项研究中，作者测试了使用不同的分子标记，是否可以检测到越小的群体具有越少的遗传变异，结果发现这仅限于在 *Mhc* 上发生（图 5.3）。因此，他提出使用小卫星与微卫星技术可能得到的关于群体大小与遗传变异之间关系的存在问题。然而，这项结果在一定程度上是出乎意料的，因为上文提出的平衡选择影响，如 *Mhc* 这样的分子标记，通常不会受到群体大小与遗传变异之间关系的影响。

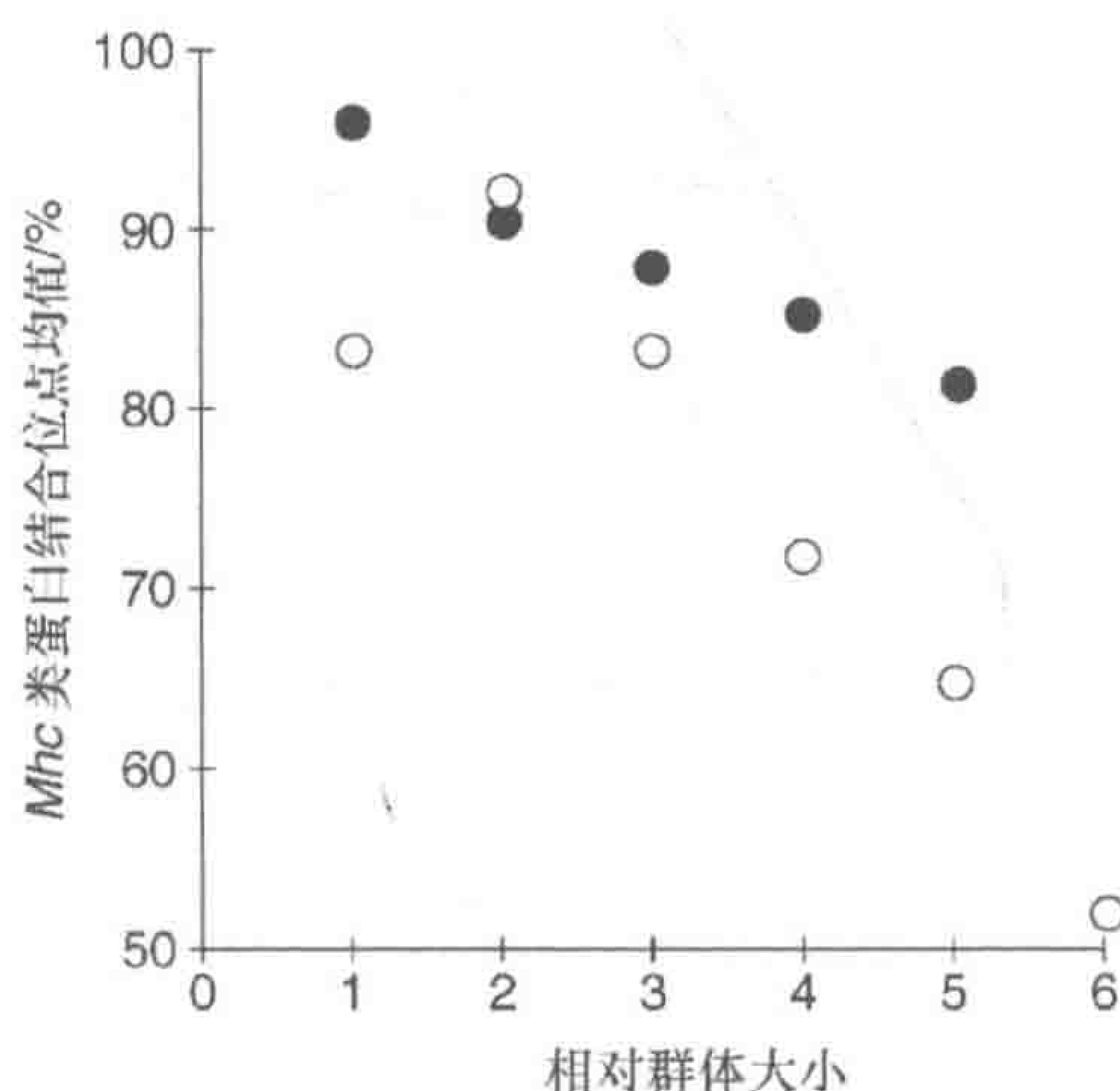


图 5.3　六个捷蜥蜴群体（空心圆）与五个宽蛇群体（实心圆）的共有 *Mhc* 一类蛋白结合位点数目均值及相对群体大小的关系（引自 Madsen et al. 2000，在作者允许下稍作修改）

上文所提及研究的一些作者也对草原蝰（*Vipera ursinii*）在匈牙利的隔离群体与其在乌克兰的大群体的个体间 *Mhc* 一类基因变异情况进行了对比（Ujvari et al.

2002)，结果发现匈牙利群体中一类变异位点的遗传变异相较于乌克兰群体更低。在匈牙利，草原蝰群体中出现畸生、染色体异常和低蝌蚪存活率的情况，说明匈牙利草原蝰群体正在经历近交衰退的影响。于是这项研究指出 *Mhc* 的低变异度在一定程度上与近交衰退有关。遗憾的是，由于这个研究并没有对这些群体的总体遗传变异进行测量，所以我们很难排除观察到的近交衰退与基因组整体遗传变异丧失的关系，即并不是只与 *Mhc* 变异的丧失相关。

红腹铃蟾（*Bombina bombina*）在其所生活地区受到当地人的保护，Hauswaldt 等（2007）对红腹铃蟾 *Mhc* 二类基因中肽结合区的变异情况进行研究，并在 20 个个体中发现了 8 个差别明显的等位基因。所有的替换中只有一个是非同义替换，而这些氨基酸区段对应的大多数高多态性位点都参与了抗原结合。红腹铃蟾中发现的 *Mhc* 变异水平也因此可以与在其他两栖类动物中发现的变异作对比分析。未来的研究应该关注于解决 *Mhc* 变异是否与群体大小和群体对病原体及灭绝风险的敏感度相关的问题。

Babik 等（2008）也做过相似的研究，他们对波兰的高山蝾螈（*Mesotriton alpestris*）中生活在该物种分布区东北部边缘的三个异域群体取样，测定了其 *Mhc* 遗传变异的情况。结果发现在这些群体里面存在着两个 *Mhc* 二类基因变异位点且它们的变异水平差异很大。其中一个位点表现出了很低的多态性，而另一个则表现为高度多态性（149 个个体中有 37 个等位基因），并推测群体之间差别极大的 *Mhc* 基因遗传多态性是平衡选择的结果。高多态性位点的变异程度与微卫星检测到的变异程度成正相关。作者认为观察到的区域差异是因为边缘群体距离冰期避难所越远，遗传漂变增高造成的，由此推断出选择与漂变的共同作用产生了高山蝾螈边缘群体中观测到的 *Mhc* 的变异形式，并且边缘群体具更高的灭绝风险。

在保护遗传领域里，关于爬行类与两栖类 *Mhc* 基因的研究实在太少，以至于我们并不能做出任何确定的结论。引物设计技术的提高将为未来无尾目非模式物种研究提供重要的保证（Hauswaldt et al. 2007），也将大大影响到目前对于两栖类群体下降的挽救，尤其是当目前认为壶菌等病原体侵扰是两栖类物种缩减的最主要原因的背景下，技术的 进步带来将为未来两栖类物种保护工作的开展提供保障。

5.1.4 *Mhc* 与鱼类保护

相比于两栖类和爬行类而言，鱼类关于 *Mhc* 变异的研究要多得多。在硬骨鱼中，*Mhc* 一类和二类基因被发现在不同染色体上（Stet et al. 2003）。到目前为止发现表达有最多一类与二类基因的物种类群为鲑科鱼类（salmonids），但在其体内也只有一个二类基因的表达位点（Grimholt et al. 2000）。鱼类模式物种斑马鱼（*Danio*

rerio）和三刺鱼（*Gasterosteus aculeatus*）的基因组都有完整的测序结果，而三刺鱼 *Mhc* 的遗传与演化也被广泛地研究（Milinski 2006），其具有超过一个位点的二类基因位点。

Van Oosterhout 和他的团队（2006）研究了孔雀鱼（*Poecilia reticulata*）两个野生群体中 *Mhc* 二类 B 区基因外显子 2 的序列变化，以及 8 个微卫星位点的遗传变异情况。他们对一个隔离于河流上游小群体中的遗传变异进行了对比，这个群体由一个可将其从下游大型群体中快速分离出来的系统形成。在这一上游小群体中，微卫星多样性更低，且在考虑微卫星发生的情况下，群体将发生遗传分化。然而，这两个野生群体的 *Mhc* 并没有发生分化变异，相反，却表现出相似水平的等位基因丰富度。作者利用计算机模拟得出，两个群体中观察到的遗传变异水平能通过在三个 *Mhc* 位点之间的超显性选择维持下来。这一解释要求自然选择在不同群体间的强度发生改变，而这也正是他们结果的亮点。他们所估计的自然选择强度和不同群体之间寄生虫的丰度差异说明了不同群体间选择强度确实存在较大区别。因此，即便存在很强的遗传漂变，*Mhc* 的高度多样性依然有可能在小型上游群体中得以维持。

鲑科鱼类中关于 *Mhc* 的研究数量是非常多的，造成这种现象的原因可能有两个：第一，鱼类嗅觉和 *Mhc* 之间存在着一定的联系，而鲑科鱼类很大程度上依赖嗅觉传递信息（Höglund 1961），MHC 分子状态并不稳定且可以通过嗅觉辨别其不同（Wedeking and Füri 1987）；第二，鲑科鱼类在渔业上有相当重要的经济价值，因此无论从纯理论角度还是应用研究的角度都有非常充足的资源提供给科学家们进行 *Mhc* 相关的研究。这些研究带来的成果便是，人们在东北太平洋利用 *Mhc* 位点来实现对饲养鲑科鱼类的辨别（Withler et al. 1997；Beacham et al. 2001）。

关于物种分化的中性分子标记和 *Mhc* 基因遗传模式，学者对大西洋鲑鱼（*Salmo salar*）进行了研究（Landry and Bernatchez，2001）。他们对在一条覆盖了多种生境和复杂地形的流域系统内 7 条河流的 7 个亚群体中 14 个个体间 *Mhc* 二类 B 区位点和微卫星位点进行了比较，结果发现参与抗原递呈的多个位点间存在平衡选择的效应，因而导致了群体内高水平的多态性。大地理尺度内 *Mhc* 与微卫星群体结构的比对揭示了分化模式之间存在着联系，且即使不同群体生境之间有明显差异，这种联系依然存在。这一结果暗示了 *Mhc* 位点在群体分化、遗传漂变和迁入、迁出方面的影响更强于选择作用对其多样性产生的影响。另外，不同河流群体两类分子标记之间的群体分化模式存在着明显的不一致性，说明了这一尺度上选择效应在构建群体结构中发挥着一定的作用。总的来说，这些结果说明在野生大西洋鲑鱼群体中，选择效应和遗传漂变共同影响着 *Mhc* 的遗传多样性。这与在上文提及的斑腹沙锥的研究结果非常相似，证明在保护过程中对物种进行迁地保护时应更加慎重。

大鳞大马哈鱼（*Onchorhynchus tshawytscha*）群体间 *Mhc* 遗传变异的研究关注了三个一类基因位点与一个二类基因位点，结果发现生活在不同河流的群体间存在分化现象（Miller et al. 1997）。正如在大西洋鲑鱼的研究那样，即便 *Mhc* 变异受到选择效应和遗传漂变的共同作用，而遗传漂变又受到不断重复的瓶颈效应，以及因与不同的冰期避难所的距离而产生群体分化的影响。正如前面提到的，这些群体所表现出至少已经部分适应了当地的寄生生物区系，因此在实施任何的保护措施前都必须记住这一点。

在受到我们施加保护的鳟鱼（*Salmo trutta*）群体中，不同地区的保护现状存在差异。许多群体都受到人类活动的多种因素影响，包括环境退化、捕捞，以及水电站坝的建设（Laikre and Ryman 1996）。Campos 等（2006）研究了西班牙北部 9 个鳟鱼独立群体的遗传变异水平及分布，并检验了在同一个河流流域系统中遗传变异保护对群体存活的重要性。他们用三种不同的分子标记对遗传变异进行筛查，包括线粒体 DNA、微卫星和 *Mhc* 二类位点。*Mhc* 位点和微卫星所得到遗传变异结果相近，在微卫星位点中表现出多态性的区域，在 *Mhc* 位点中也有相同表现（图 5.4）。他们还观察到群体之间的高遗传分化现象。因此，在这个案例中，遗传漂变似乎削弱了平衡选择效应的强度，而小型群体中似乎由占主导地位的演化动力决定了遗传变异的出现。

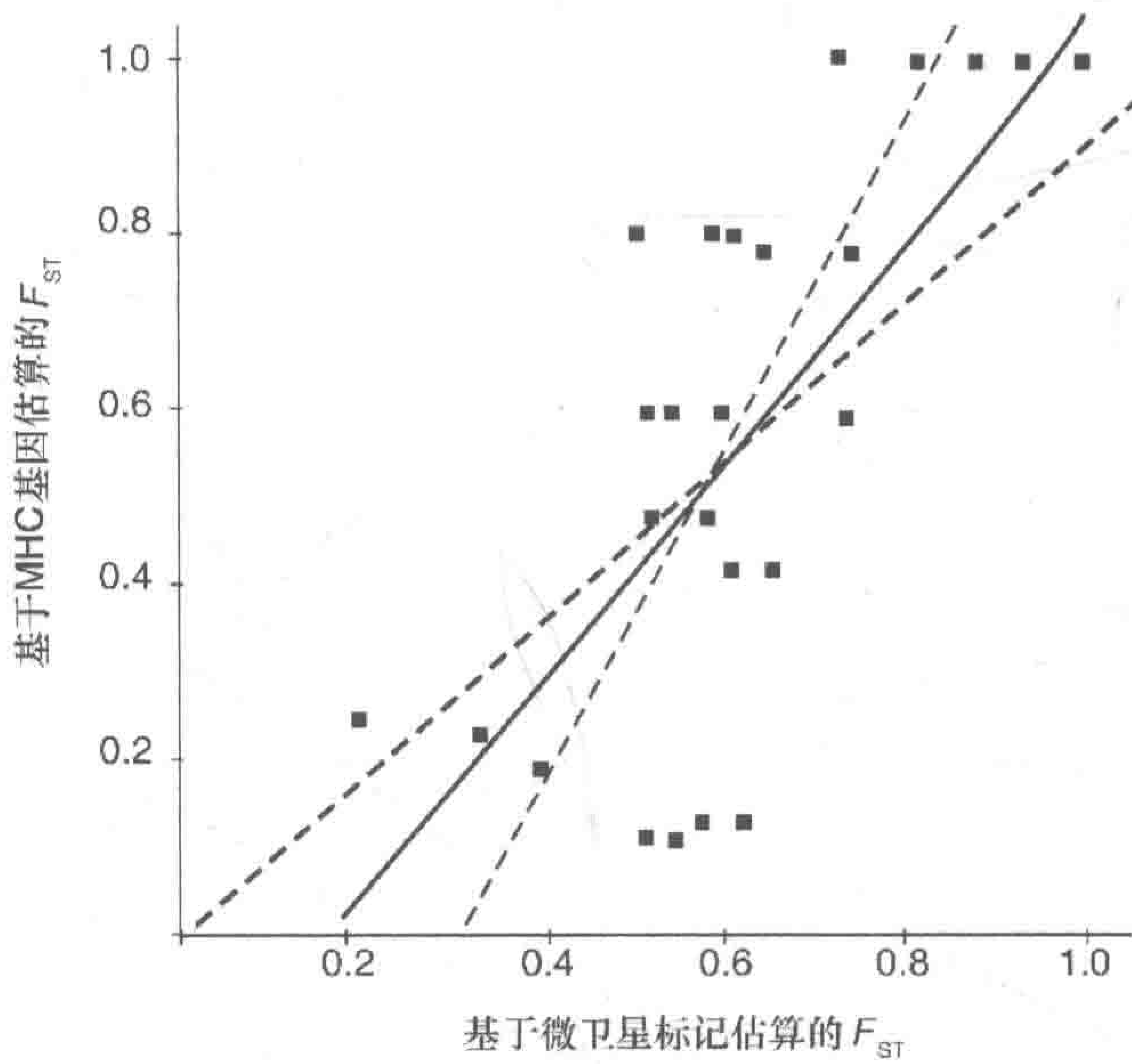


图 5.4 西班牙鳟鱼群体 MHC 与微卫星两两配对 F_{ST} 值的线性回归

虚线表示 95%置信区间（引自 Campos et al. 2006，在作者允许下稍作修改）

研究指出，当地鳟鱼群体可能存在高度分化和适应于当地的河流环境，因此在保护项目的进行中考虑群体间遗传变异是很重要的（Laikre 1999）。正如 MHC 蛋白在当地寄生生物区系引起的选择压力下发生共同演化的潜在可能一样，*Mhc* 基因的变化对于保持群体对当地环境的适应性而言有重要的作用。因此可能会有这样一种观点，即对鳟鱼（或者其他生物）的管理与保护的最基本单元应是当地的局部群体（Laikre 1999）。如果 *Mhc* 和其他位点的遗传变异与群体结构主要受中性过程影响的话，群体对当地的适应性将不会存在，但存在空间变化的选择效应有可能导致群体对当地适应性的发生，尤其当个体的迁移行为受到限制时，适应性的发生将更为明显。如果真是这样的话，外来种的出现将导致当地群体发生远交衰退，正如一项有关瑞典鳟鱼群体的结果表明的一样（Grahn and Forsberg 2008）。瑞典达尔河上一座水力发电站从 1915 年开始就阻挡了鳟鱼返回先前产卵地的路径，取而代之的是人工繁殖和围场养殖。在这个过程中，河流里的群体很可能相互融合，而实验数据表示在这一混交群体中，*Mhc* 纯合雄性在交配与繁殖竞争中存在优势。对于这一出乎意料且反常规的现象的解释是，在这个人工混合的群体中，*Mhc* 多样性太高以至于超出其最适宜的范围。关于高度变异性可能导致适合度下降的原因包括了自身免疫应答（Nowak et al. 1992；Reusch et al. 2001），以及对当地基本条件适应性的下降。

正如在其他动物群体中的研究一样，平衡选择维持 *Mhc* 多态性的证据在鱼类群体中存在一定程度上的不确定性，但有一点清晰的是，许多群体中 *Mhc* 的变异确实由当地寄生生物区系引起的平衡选择来维持。这里强调了在其他脊椎动物研究结果中有所表明的结果：*Mhc* 对当地的适应性是普遍存在的，而混交原先已适应于当地的群体将可能产生不利的影响，正如瑞典鳟鱼研究的结果所显示的那样。

5.1.5　总结：*Mhc* 与保护免疫遗传学

由于 MHC 在脊椎动物免疫应答功能上的作用，*Mhc* 基因的变异性对自然群体的生存有重要的影响。正如我们在前文所讲的那样，很多研究显示了具有低水平变异性的 *Mhc* 位点，或者存在一定单倍体的群体，对于疾病有着相对较高的敏感性，并因此更容易灭绝（见 O'Brien et al. 1985；Paterson et al. 1998；Langefors et al. 2001；Arkush et al. 2002）。然而，其他研究也发现那些在 *Mhc* 位点上具有低变异性或者没有变异性的群体依然能够维持生存（Slade and McCallum 1992；Ellegren et al. 1993；Seddon and Baverstock 1999；Hedrick et al. 2000；Miller and Lambert 2004；Weber et al. 2004）。*Mhc* 基因在保护上的作用和重要性因此被广泛争论。许多保护相关的免疫遗传学研究的主要关注点都放在 *Mhc* 二类基因上。虽然这些研究为我们提供了很多野外受胁迫群体抵御疾病的内

在机制，但很清晰的一点是，保护免疫遗传学研究如果在未来能够考虑更多免疫相关的基因与位点，将能够为这一领域带来很大的好处（Acevedo-Whitehouse and Cunningham 2006）。

我们可以举出对丹麦鳟鱼的一项研究（Jensen et al. 2008）来作为例子。研究者们利用在 TAP 蛋白（抗原加工过程中起转运作用的蛋白质）编码区域中 8 个中性微卫星位点和 2 个微卫星位点来研究群体的时间与地理空间分化。*Tap* 基因编码的蛋白分子能够在细胞内质网膜转运外来多肽链时与 MHC 一类蛋白分子结合，因而在激发细胞对胞内寄生菌免疫应答过程中起重要作用。这一位点的遗传变异即而容易受到病原体与抗原影响的选择效应作用。观测到的中性遗传变异说明，尽管在长时间范围内局域内的群体遗传结构比较稳定，但在不同时间点之间其实是不稳定的。通过特殊的统计学检验发现在两个 *Tap* 分子标记中存在扫荡选择，暗示了群体受到区域性甚至是微局域性选择效应的影响。此外，地区内不同时间样本的歧化选择信号说明了选择效应在时间尺度上可能存在波动性。这些结论说明，免疫相关基因而非传统上的 *Mhc* 一类与二类基因更可能受到选择的影响，需要进一步的研究了解这些基因在自然群体中的功能多态性。

5.2　其他与保护相关的基因

Mhc 目前已经成为保护研究中最受欢迎的候选基因，相比之下其他基因则很少被研究，一部分原因是我们几乎没有获取到非模式生物中相关基因的信息。随着科技的进步，我们在研究受胁迫而濒危的物种时必须将其他具有生态重要性的基因也考虑进去。下文中我将简要回顾在演化生态学框架下非模式生物中一些基因的研究，这些研究在保护议题上具有重要的意义（Segelbacher and Höglund 2008）。

5.2.1　色素基因：*mc1r*

在生态遗传学领域，关于动物色素的研究已经发展了很长一段时间（Hoekstra 2006），期间对蜗牛属（*Cepaea*）带型和桦尺蠖（*Biston betularia*）工业黑化两个经典案例的研究，成为生态遗传学领域中仅有的两个表现动物自然色彩在群体生存方面重要作用的研究，帮助人们了解群体如何在不同选择条件下对当地环境的适应（在这两个案例中最终是由捕食者引起）。人们已经清楚了解到动物着色现象具有很强的遗传基础，使群体能够快速地适应于当前的条件（Majerus 1998）。因此在保护工作中，色素基因也十分相关。

尽管这个世界上存在着很多种动物色素，研究最多和最为人所知的着色现象莫过于黑色素相关的着色。黑色素（melanin）由特异分化的黑素细胞（melanocyte）

产生。脊椎动物中黑色素产生的过程（melanogenesis）具有十分复杂的步骤，包括从开始合成到中间转运，再到黑素细胞的调节（Jackson 1994）。黑素细胞在体内可以合成真黑素（eumelanin）或棕黑素（phaeomelanin），或者不合成任何色素。提高真黑素的合成水平将导致个体出现更黑的皮肤、毛发或羽毛，而提高棕黑素的合成水平则将导致个体出现红色或棕色的表型，黑素细胞若不合成色素则将引起个体的白化病现象（图 5.5）。

基于黑色素的着色现象发生的生理过程与相关基因在近段时间被很好地研究。哺乳动物中了解最清楚的生理过程是由细胞表面蛋白 MC1R 调控的细胞通路。MC1R 被称为黑皮质素 1 号受体（melanocortin 1 receptor）或 α 促黑素细胞素受体（α melanocyte-stimulating hormone receptor，αMSH receptor）。通过 α 促黑素细胞素多次循环刺激作用激活 MC1R，引起 MC1R 合成一种 cAMP 信号分子，进而激活包括酪氨酸酶（tyrosinase，Tyr）及相关 1 号蛋白（tyrosinase-related protein 1，Tyrp1）的复杂通路，最终导致真黑素的合成。将 αMSH 拮抗剂 Agouti 结合在 MC1R 上，则没有黑色素或棕黑素的合成。研究者们相信在其他动物中黑色素合成过程依然遵循相似的途径，但相关细节我们并不了解（Mundy 2006；Hoekstra 2006）。

mc1r 基因是皮肤黑素细胞中表达的一个短基因（单个外显子长约 1000bp），在脊椎动物中调控羽芽和相似组织的生长。在人体中，*mc1r* 基因的突变常常与红发或浅色皮肤的表征相关（Makova and Norton 2005）。许多认为表型变异与序列多态性相关联的研究在饲养动物群体（如 Kerje et al. 2003；Våge et al. 2005）和野生动物群体（Mundy 2006；Hoekstra 2006）中均有发现。最近，人们又发现 *mc1r* 基因在鸡形目谱系中演化更快，说明鸟羽中存在更多分化，这可能是由于性选择的强度不同而导致的（Nadeau et al. 2007a）。

与研究 *Mhc* 基因在免疫相关基因中的地位一样，人们重点关注了色素基因 *mc1r* 在颜色表型变异中的作用，然而这只是参与颜色合成的一个候选基因。在近期一篇关于野生脊椎动物群体中着色变异分化的综述中，Hoekstra（2006）列出的 14 项研究中有 12 项与 *mc1r* 有关。很明显，我们需要对更多黑色素合成位点和其他色素的研究。例如，日本鹌鹑（*Coturnix japonica*）的研究显示了编码 Tyrp1 基因中单核苷酸的替换与其羽毛的颜色有关（Nadeau et al. 2007b）。

据我所知，到目前为止还没有保护议题上直接与色素基因变异直接相关的任何研究。但是，在保护上与着色现象相关的研究，很可能与那些认为遗传多样性保护本质上就是将保护一切的观点相冲突。由于着色现象往往与生物体所处环境背景有很强的相关性，在环境和最适表型之间通常存在一个配对关系（Hoekstra et al. 2003，2005）。正如在 *Mhc* 那部分提及的那样，通过群体的转移来试图增加群体数量，或是提高遗传变异，都可能对等位基因产生负面的影响。

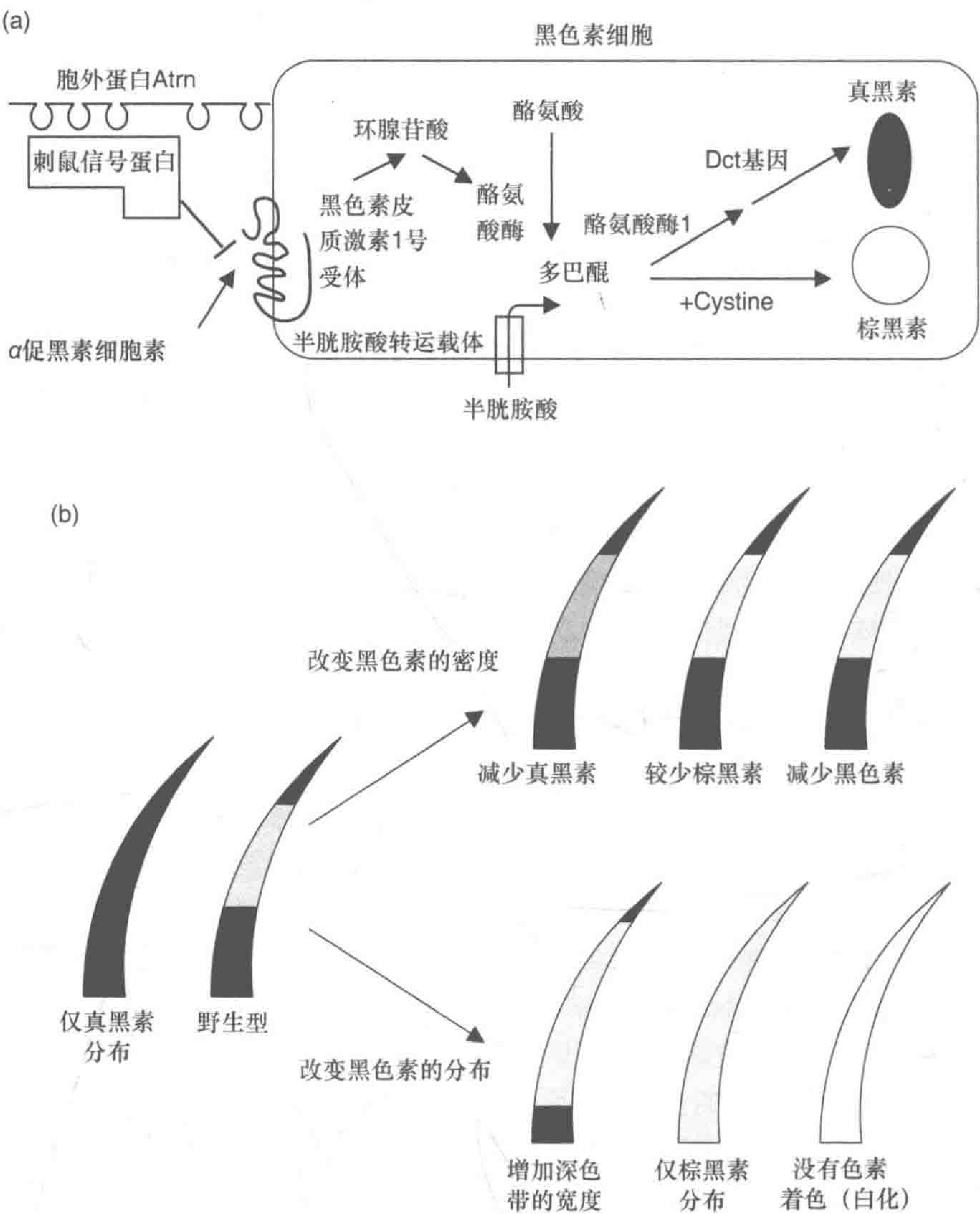


图 5.5 哺乳动物黑色素生成与个体毛色的表型效应调控通路示意图

（a）循环 α 促黑素细胞素（αMSH）结合到 MC1R 蛋白，通过 cAMP 激活酪氨酸酶（Tyr）的合成。在细胞内，酪氨酸在 Tyr 催化下与多巴醌反应被氧化。cAMP 影响 Tyr 的酶活性，以及真黑素相关的特异的酶活性，包括酪氨酸酶相关蛋白 1（Tyrp1）与多巴色素互变酶（Dct）。当这三种酶都发挥作用时，真黑素（棕色到黑色色素）将储存于黑色素体中。但是，当 MC1R 反向激活剂 Agouti 在胞外蛋白 Atrn 的帮助下结合到 MC1R 上时，细胞内 cAMP 水平被抑制，引起棕黑素（黄色到红色色素）的合成。棕黑素合成也受到胱胺酸浓度的影响，而胱胺酸的吸收部分由 xCT（黑素细胞中调控胱胺酸吸收的蛋白质，在小鼠中为 Slc7a11 基因位点产物）调节。（b）哺乳动物全身毛色受毛发中黑色素密度与分布的影响示意图。毛发中着色现象由整条毛发分布有黑色素，到白化毛发中完全不含黑色素（引自 Hoekstra，2006，在作者允许下稍作修改）

5.2.2 光周期现象：*Clock* 基因和其他基因

近年来好几个研究都指出，生物钟（即生物体与自然昼夜节律同步化的现象；Bell-Pedersen et al. 2005）是动物行为中在分子水平上特征化最好的方面之一（Fidler and Gwinner，2003；Johnsen et al. 2007）。例如，脊椎动物 *Clock* 基因编码一种能与 BMAL1 蛋白异二聚化的蛋白质，产生一个具有转录活性的复合体。这一复合体在脊椎动物昼夜节律分子调控中起十分重要的作用（Panda et al. 2002）。在人体内，*Clock* 基因中单核苷酸位点的多态性与睡眠时间的偏好变化有关（Mishima et al. 2005）。*Clock* 基因影响的不仅仅只有昼夜节律，有证据表明 *Clock* 基因的多态性与虹鳟（*Oncorhynchus mykiss*）产卵时间的不同有关（Leder et al. 2006）。

Johnsen 等（2007）研究了两种雀形目鸟类 *Clock* 基因的等位变异，该基因可编码聚谷氨酸（*Clk*polyQcds）。其中一种鸟名为蓝喉歌鸲（*Luscinia svecica*），是一种候鸟；另一种为蓝山雀（*Cyanistes caeruleus*）。研究者在两个物种的不同群体中发现了多个 *Clk*polyQcds 的等位基因。可在分析群体遗传差异时，他们发现群体间 *Clk*polyQcds 位点与微卫星位点中观测到的等位基因频率变化在两个群体中的表现是不同的。*Clk*polyQcds 等位基因在蓝山雀群体的基因频率显著不同，说明不同群体可能受到光周期引起的选择效应而产生的适应性改变。但这一现象却没有在蓝喉歌鸲的群体中被观察到，可能是因为研究人员采集样品数量不足，以至于无法表现出明显的统计学性状。

这个例子中的等位基因变异是在聚谷氨酸基因编码区中发现的。正如 Johnsen 和他同事们所指出的，这一重复序列相对高的变异率也许与哺乳动物间快速的形态学演化有关（Fondon and Garner 2004）。他们进一步认为，那些编码区中发挥快速演化作用的潜在重复序列，正因其为群体提供了面临选择性压力波动的可塑性而被选择下来（见 Wren et al. 2000）。同时他们提出，对编码生物钟组成蛋白基因等位变异频率的研究，可能需要注意基因在多变气候环境下所表现出的适应性。当气候发生变化时，许多与生物节律相关的参数都被认为会发生相应的改变。因此，假设雀形目鸟类群体适应于光周期改变，从而改变其最大繁殖后代数目以配合该物候条件下食物最丰富的时间，那么这一群体将不得不发生遗传上的改变，又或者面临灭绝的风险（Dias and Blondel 1997）。

在植物中，究竟什么基因参与了植物个体重要生态性状的调控，如花期、种子形成、发芽和每年的植株生长量等。就像动物中的昼夜和光周期节律一样，开花的时间是植物生活史与当地环境相互联系的过程，是植物一生中重要的性状（Roux et al. 2006）。植物中花期的遗传基础在模式物种拟南芥（*Arabidopsis*

thaliana）中被广泛地研究，揭示了参与花期调控的复杂的基因网络（图 5.6），并表现出有 4 个主要通路和许多潜在基因负责完成该重要性状的调控过程（Bernier and Périlleux 2005）。

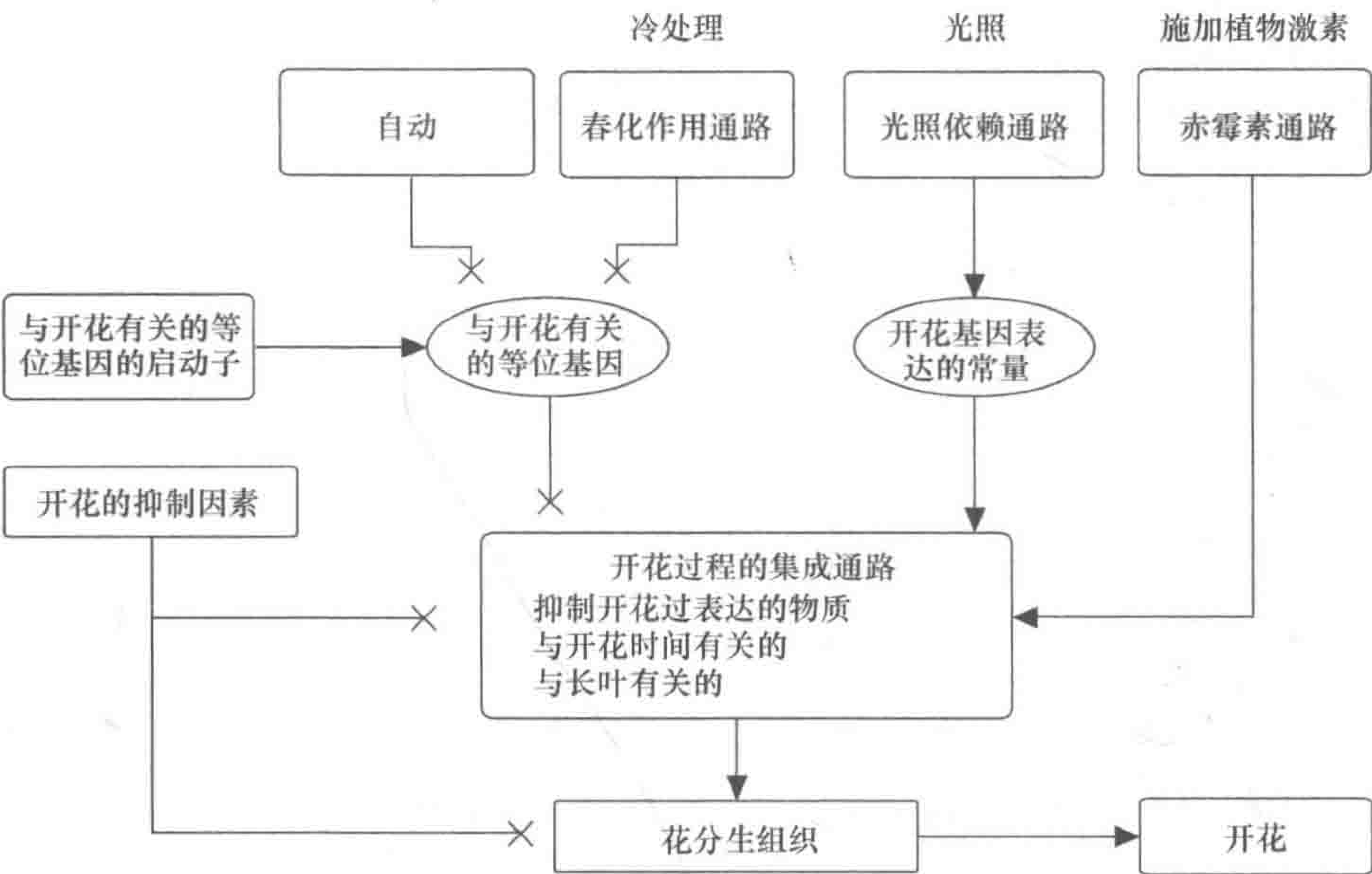


图 5.6 花期调控网络简化模型（引自 Roux et al.，2006，在作者允许下重新绘制）

一般认为花期应该与群体所在纬度差异相关，但是，我们却并没有找到任何相关的清晰模型（Stinchcombe et al. 2004；Shindo et al. 2005）。有研究提出，地理上的因素所引起的变化倾向可能更容易被光周期以外的其他选择模式所遮盖，因而在不同地域差异很大（Roux et al. 2006）。尽管不同的研究似乎存在着矛盾，但是有一点是清楚的，那就是光受体基因是拟南芥开花与生长过程中自然变异的主要驱动者（Balasubramanian et al. 2006）。这一结论是通过对 65 个与纬度相关位点之间全基因组扫描分析得出来的。在这项研究中，163 个品系中最相关的位点是 *Phyc*（植物色素 C 光受体，phytochrome C photoreceptor），说明 *Phyc* 受到正选择的影响。

最大的挑战是如何将拟南芥研究得到的结果转移到其他的植物物种的研究中。在稻属（*Oryza*）植物中，研究发现有两个相互独立的调控开花的通路：一条由 *Hdf1*（heading date 1）基因调控，是拟南芥 CO（Constans）的直系同源基因，另一条由 *Ehd1*（early heading date 1）基因调控，它是 FT（flowering time locus）的直系同源基因。CO 和 FT 在拟南芥植物的花期中都起着重要的作用。相似的，芥蓝菜（*Brassica nigra*）中一个 CO 直系同源基因发生的插入或缺失变异被发现

与这一个物种花期变化有关（Österberg et al. 2002），而 FT 的一个同源物也被认为在针叶树生长节律的调控中有一定的作用（Gyllenstrand et al. 2007）。同样的，在欧洲山杨（*Populus tremula*）*phytochrome* B2 位点的核苷酸多态性也被发现与其出芽时间有关（Ingvarsson et al. 2008）。

可是，在拟南芥与野生物种之间依然存在着很重要的差别。Slotte 的研究团队（2007）利用早花期和晚花期的荠菜生态型的基因表达差异，比较了它们对温度变化的响应（春化作用）。他们利用拟南芥的基因芯片分析发现了不同生态型之间的区别。相反，在拟南芥中 *FLC*（flowering time locus C）并没有春化作用前出现差异性的表达，而赤霉素通路与光周期通路的表现十分相似。

人们越来越了解植物中光周期现象在演化上是非常保守的，因此我们可以利用候选基因的方法来研究和保护受胁迫植物群体的遗传多样性。然而，正如生物传导路径所展示出来的复杂性那样，这种方法并不简单。

5.3 结　　论

在保护遗传学研究中有一个说法，认为遗传变异是任何物种适应环境变化的一个先决条件。由于小型或破碎化的群体对应于低水平的遗传变异，因此在环境条件发生改变时它们更难发生适应性的调整。群体的破碎化和隔离也因此会对群体适合度和现存群体的存活，以及这一物种的演化潜能带来不利的影响（见 Ferriere et al. 2004）。这一系列原因很容易让人得出一种结论，即遗传演化的保护就是保护所有的遗传变异，越多越好。可是，正如这一章节我们所讨论的，对生态演化相关的候选基因的研究结果在某种程度上对这样的观点提出了质疑。当然，保护遗传学的研究依然需要关注于遗传变异的保护，以及对保护受胁迫群体有重要作用的生物学过程。但是，对于遗传多样性的保护必须有足够的理论指导和审慎的态度。因此，对局部适应的充分认识与了解是十分必要的，这一点我们在下一章节中也会重点讨论。

目前研究受胁物种群体内或群体间的遗传多样性，都是使用所谓的中性分子遗传标记来量化遗传变异（McKay and Latta 2002；Sommer 2005）。我们在这一章节的前面部分谈过，这些分子标记在评估有效群体大小、群体迁移率，以及其他群体遗传过程中均有很好的表现，因为总体上讲，它们并不会受选择效应的影响，因此遗传变异主要是由遗传漂变决定的。然而，人们现在怀疑，在维持群体所需要的那些具有生态意义的遗传变异方面，这些中性遗传变异究竟是不是一种合适且可行的、能够反映群体适应于生境和环境变化的替代性变量（如 Madsen et al. 2000；Hedrick 2001）。近期有一篇综述文章引用了 Frankham（1999）文章中的一句话来说明目前利用中性标记、数量性状位点及生态关联的性状来研究自然群体

遗传变异的现状："（在保护上）一个主要而没有解决的问题是利用分子方法研究数量性状的遗传变异和遗传多样性之间的关系"（McKay and Latta 2002）。对候选基因的研究是我们目前认识群体区域适应性的桥梁，正如在这一章我们讨论的，选择效应可能通过平衡选择维持群体的遗传变异，同时通过负选择和正选择来使遗传变异逐渐消失。

6 局部适应

在前面的章节回顾了候选基因的方法依赖于基本假设，即某些情况特定的遗传变异比其他基因更受自然选择的偏好。这意味着可以确定野外群体受到自然选择压力影响的基因。也就是说，在基因水平上的适应性是可以被探测的。事实上，这样的研究在演化生物学中有着悠久的历史（Rose and Lauder 1996；Banta et al. 2007）。本章将涵盖野外群体局部适应的证据。遗传变异的发生能使群体适应新的环境是保护遗传学中的一个范式，但如果遗传变异丢失或减少，这种能力会受到阻碍，这无疑是对濒危物种的最终威胁（Frankham et al. 2002；Latta 2008）。正如我们在前面的章节中所看到的，人类引起的环境变化往往导致此前连续分布的物种的群体结构变化，让它们生活在越来越多的片段化的栖息地（见 Smith and Bernatchez 2008）。这些过程也导致了有效群体大小的减少，并且随着片段化的增强，群体倾向于越来越孤立。因此，当群体迁移的强度减缓时，群体的遗传分化机会加剧。基于这些原因，我们要保护受胁物种，需要促进个体迁移，并增加带来的小型孤立、片段化群体的遗传变异，这种遗传修复的策略被认为是一个可操作的保护管理对策，在一些案例中也被经常使用（Westemeier et al. 1998；Madsen et al. 1999）。正如在前面章节中指出的那样，这些实际操作中的考量和策略，被采用来抵消遗传漂变和近亲繁殖带来的有害后果。

父母之间遗传距离增大时，后代因为近亲繁殖而产生的有害影响会减少，但后代适合度的预期增长幅度会随着个体间遗传距离变大随后趋于平缓（Fenster and Galloway 2000）。这样的极端例子可以体现在种间杂交时，杂交后代的适合度会减少。甚至有时在种内可观察到亚种间杂交，这可能表明适合度的减少（Hewitt et al. 1987；Rubidge et al. 2001）。远交衰退（outbreeding depression）的案例表明存在近亲繁殖的最佳水平（Bateson 1983）。

在群体水平上，地方群体遇到本地化的自然选择压力是不可避免的。其原因可能是多样化的，但地方群体可能对诸如海拔、光照、土壤条件、捕食压力和种间竞争等因素产生不同响应。事实上，任何两个地方的群体面对不同的环境条件的可能性比相似环境要大。这些差异条件可能因此导致局部适应。对于物种局部适应的研究案例，也就是说，一个地方群体中的遗传变异对本土化选择压力的响应，有过很多的研究文献支持（在下面会简要回顾）。远交衰退和局部适应的重要性是保护生物学关注的问题，因为每一个范例出来都会引起质疑——是否始终以

迁移的方式在孤立群体间形成人工基因流是一个有效的保护策略？

从 Kimura（1968）的工作开始，野生群体更多地受到遗传漂变还是自然选择的影响便成了演化生物学的一个长期存在的问题。野生群体的数量遗传性状是由自然选择形成的，还是主要由中性突变-随机漂变引起的（如 Smith et al. 1997）？这个问题可以利用所谓的 Q_{ST}-F_{ST} 比较来解决。这类研究往往比较了群体在数量性状和中性性状中的多样化水平（如 Merilä and Crnokrak 2001），这可以被用来讨论自然选择在野生群体中的作用。基本原理是，观察中性性状中的群体差异，将获得由于遗传漂变导致的群体分化作为基准，而在数量性状中观察到的分化可能是由遗传漂变和选择共同形成的，因此可能与从中性位点中预测的群体遗传差异进行比较（Spitze 1993）。

6.1 局部适应的表现

适应局部环境条件的证据是很丰富的，我们很难对所有的相关研究进行全面的回顾。我们于 2008 年 6 月在 PubMed 国际数据库中检索“evidence of adaptation to local environmental conditions（适应局部环境条件的证据）”时，命中了 102 条结果。因此，如下提到的内容无法覆盖全部的研究，但还是有相当多的例子来阐明局部适应是普遍规律而不是野生群体中的例外情况。这个话题针对保护生物学的核心问题是：是否濒危群体丢失许多遗传变异从而造成群体局部适应性的降低。

有两种主要方法被用来研究局部适应的本质。第一种是直接地或者所谓的异时法（allochronic）。在这种方法中，群体内随时间的变化情况被跟踪记录下来。通常疑似适应局部条件的性状的遗传可能性被测定，表型的适合度通过环境的变化情况修正。应用异时法的研究案例有：达尔文地雀身体和喙的形态对变化条件的适应性响应的研究（Grant and Grant 2002，2007），孔雀鱼生活史和第二性征的适应性改变的研究（Reznick and Bryga 1987），等等。

另一种可选的方法是间接法，或称为同步法。我们研究了拥有共同祖先的现生群体间的变异，以及通过认识不同环境中的生物来研究环境与表型的相关关系。这些相关关系可能通过随后的测定实验条件下个体的表现得到，如测定相互移植实验引起的在不同环境中的表型适合度。采用同步方法检测适应性的例子有蓝山雀（*Cyanistes caeruleus*）的研究（Blondel and Coworkers 1993）和加勒比安乐蜥（*Anolis*）的研究（Losos 1990）。

Reznick 和 Travis（1996）列出了 5 个关于适应性的经典实证研究案例，如下：

（1）白桦尺蠖的工业黑化和黑化表型频率增加的例子。这一例子和增加的工业污染水平有关，使得黑化表型和背景相配，因此使它们更难被捕食者发现，

（Kettlewell 1955，1956，1958）。更多的这一系统的最新研究发现，随着工业污染程度降低，黑化表型出现的频率也降低了（Majerus 1998）。

（2）葱蜗牛(Cepaea)的带型、与环境背景的关系，以及受视力发达的鸟类捕食者的影响情况（Cain and Sheppard 1950，1954）。

（3）白足鼠皮毛颜色多态性和环境背景的匹配程度的例子。与前两个例子类似，也和鸟类捕食者有关（Dice 1947）。

（4）细弱剪股颖（*Agrostis tenuis*）对重金属的耐受性。生长在土壤受到重金属污染的矿山附近的植物比在未受污染土壤附近的植物更难受到重度重金属污染影响（McNeilly 1968；McNeilly and Bradshaw 1968）。

（5）果蝇中染色体倒位模式受到了海拔和季节引起的频率变化（Dobzhansky 1948）。

对植物的研究为增加对局部适应性的认识发挥了重要作用，有许多例子报道了大尺度和小尺度情形下适应局部条件相一致的结果。例如，对窄叶车前草—长叶车前草的交互移植实验表明，来源于“本地地点”的植物生存得最好（van Tienderen and van der Toorn 1991）。这与其他许多研究结果可能会受到地理距离和梯度变异的混淆，也许可用遗传漂变来解释。然而，对灌木尾荚豆（*Lotus scoparius*）的一项研究发现，对于植物的适应性，起源和移植群体的遗传距离及生态相似度是比地理距离更强的决定因素（Montalvo and Ellstrand 2000）。这有力地表明，通过自然选择而不是遗传漂变产生的局部适应是这一结果的根本原因。

植物的局部适应可以在很小的尺度上起作用。在波罗的海的厄兰岛上生长的多年生草本植物沙生帚丝生竹（*Gypsophila fastigiata*），只有约 2%的总等位酶多样性可以用相距几十千米的地理分化解释。然而，Pgi-2 位点仅仅在 10 m 的尺度就存在显著分化，这与栖息地差异和个体繁殖率差异相关（Lönn et al. 1996）。此外，通过土壤微生境的差异选择来解释这种分布，作者认为这个研究表明了差异选择可能对局部小尺度的群体遗传结构有影响，尽管在随机交配的物种的不同种群间存在着比较广泛的基因流。

长久以来，演化一直被认为是一个非常缓慢的过程。然而，在许多生物中可能存在对局部选择和生境变化作出快速反应的能力（Stockwell et al. 2003）。演化的变化可以在几十年甚至更短的时间内发生（图 6.1）。举一个例子，对一种猪笼草蚊（*Wyemyia smithii*）适应温度变化的研究表明，受基因决定的临界光周期（定义为诱导昆虫群体 50%的个体进入滞育或者使 50%个体终止滞育的每天光照时数）自研究者 1972 年首次开始测量以来在其海拔分布范围内具有显著增加的趋势，甚至短短 5 年的结果也能检测到（Bradshaw and Holzapfel 2001）。这一结果可以帮助我们更好地理解物种演化对气候变暖的响应。

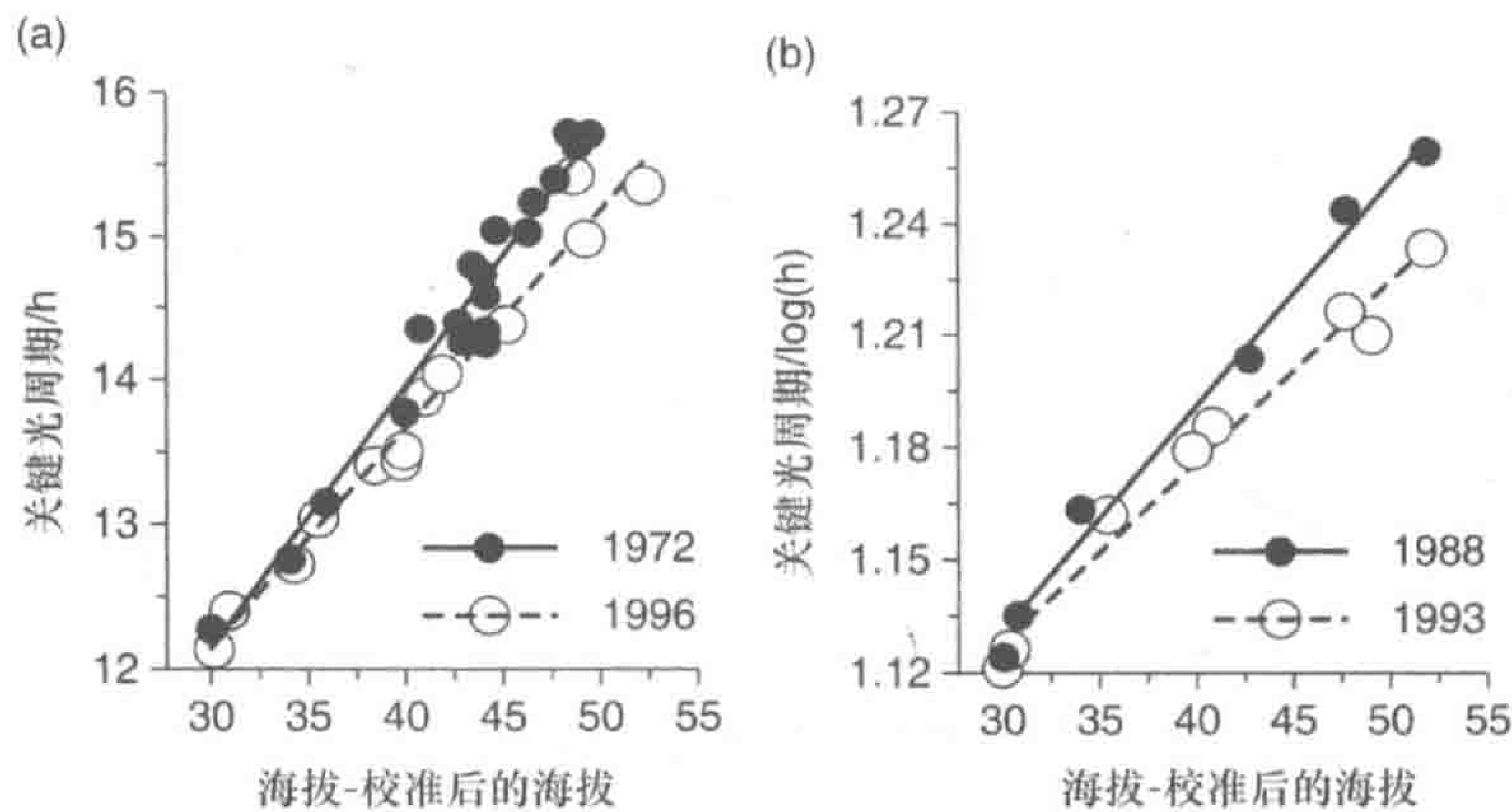


图 6.1 猪笼草蚊随着纬度变化更短的临界光周期的增加

这表明随着纬度的增加，会选择更多的南部表型（引自 Bradshaw and Holzapfel 2001，在出版商允许下重新绘制）

斯堪的纳维亚半岛上的一些环境梯度已经得到了充分的研究。首先，总体上栖息地自南向北越来越冷，生长季节越来越短。其次，自西向东酸性 pH 越来越弱。总体来说，西部栖息地比东部的酸性更强（图 6.2）。在一系列论文中，Anssi Laurila、Juha Merilä 和他们的同事研究了中国林蛙（*Rana temporaria*）和田野林蛙（*Rana arvalis*）的适应，特别是沿着这两个梯度蝌蚪的生活史性状。他们已经阐明，在野外不同池塘中的林蛙蝌蚪的发育率丰富多样。与此相反，在实验室中的发育率随着纬度增大而线性增加。因此，这些结果表明，在北方有更快发育的遗传潜力。这是反梯度变异的一个例子，说明在野外某些性状（本例中是发育时间）会被恶劣的环境和（或）宽松的捕食压力掩盖。他们的研究表明，田蛙中起源于酸性环境的群体在发育过程中更耐酸性环境（Räsänen et al. 2003a）。其中的机制似乎是由雌性介导的，它们在酸性环境中生产更多周围包被有保护性凝胶状卵囊的胚胎（Räsenen et al. 2003b）。

在我自己的研究小组，我们采用实验探究遗传多样性是否可以影响适应性，为此我们对瑞典南部的两个间断分布区的黄条蟾蜍局部适应的程度进行了研究（B. Rogell 等未发表结果）。在瑞典，黄条蟾蜍出现在栖息地显著不同的两个区域。在瑞典西海岸的布胡斯省，在近海岩石岛屿出现了几个孤立的黄条蟾蜍群体。这些岛屿由于繁殖池塘浅，而且往往非常靠近海洋，易遭受海水入侵和干燥化的双重风险影响。这两个因素构成的选择压力在瑞典的其他黄条蟾蜍居住地区较弱，如在瑞典南部的斯科讷省，黄条蟾蜍群体生活在更深的植草池塘中。因此，我们推测布胡斯省的群体应适应当地升高的盐度水平和池塘蒸发造成的日益增大的干燥化风险。为适应这些条件所演化出的性状可能是更高的耐盐性和更快的发育速率。

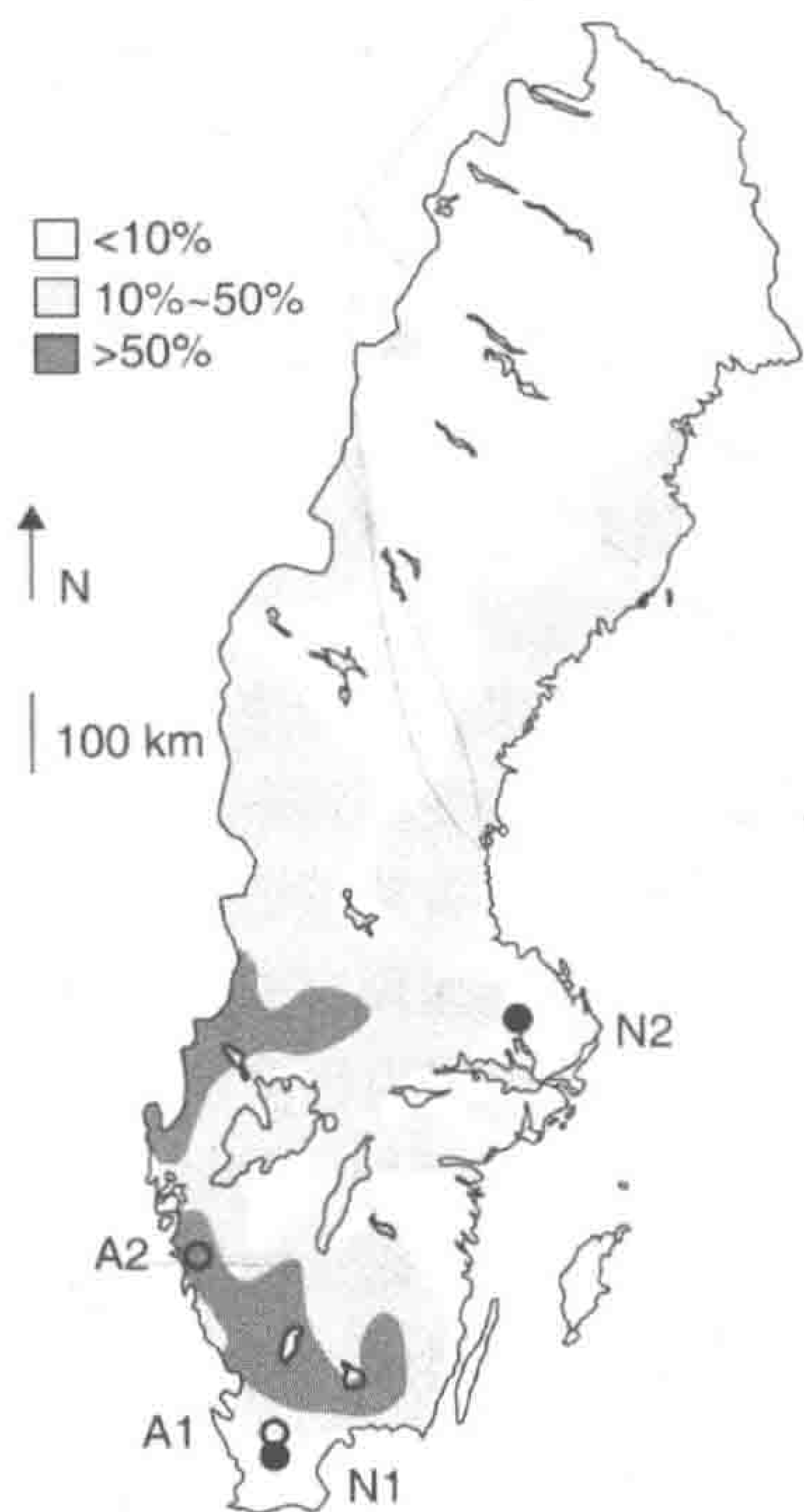


图 6.2 地图展示瑞典 1990 年的酸化湖泊的比例，以及两个酸性和两个中性研究群体的地点（引自 Räsänen et al. 2003a，在出版商允许下重新绘制）

我们在实验室里培养了来自布胡斯省和斯科讷省的几个蝌蚪群体，随后做了同质园（common garden）的实验，设置了两个温度条件，每一个温度下设置了三个层次的盐度梯度。我们记录了从出生到变态时的日数和变态时的重量，以及幸存蝌蚪的百分比。

我们在之前的第 2 章提到，在布胡斯港，同一区域更大的群体比更小的群体有更多的遗传变异。因此，我们预测由于具有更高的适应潜力，遗传差异最大的群体会更好地适应选择压力。我们在这个实验中的结果证实了这一假设：与遗传上多样性更丰富的群体相比，遗传多样性低的群体的幼虫发育需要较长的时间，这表明低的遗传多样性限制了对干燥风险的适应。因此，我们的结果表明，中性遗传多样性可以预测当地群体如何对局部选择进行响应，当遗传多样性很低时群体对干燥风险的适应便受到了阻碍。

我们进一步发现，来自布胡斯省和斯科讷省的蝌蚪是受到低温和高盐度影响最严重的。正如预测的那样，布胡斯省群体对干燥池塘有局部适应，但在同一时间，他们表现出较高的死亡率，也比斯科讷蟾蜍受到盐度升高的影响更为严重。我们对这些看似矛盾的结果的解释是，快速的蝌蚪发育速率和耐盐性存在着负相关关系（Hofman 2007）。看起来好像是蟾蜍在发育时间短和耐盐性之间进行的权衡。我们

假设前者胜过后者，于是导致了布胡斯省蟾蜍的生活史策略与期望的对盐度升高的局部适应之间并不匹配。

局部适应对保护生物学是否重要？我们需要讨论几个相关的问题。首先，如果局部相互适应的很多基因型来自于群体小的或者濒危的物种中，那么移植或再引入新的个体有可能是不利的保护策略，因为它们阻止了局部适应或引进不太理想的基因型使得它们对应的表型不适应迁入地。另外，如果适应是一个普遍现象，甚至可能短时间内在小型群体中发生，那么考虑打破局部适应的多个基因是不明智的做法，因为它们将会迅速地被新的最佳表型来代替。这些问题可能通过对受威胁物种的保护遗传学研究来解答。在遗传变异和群体大小非常低的案例中，遗传漂变是塑造群体遗传多样性的唯一因素，在有明显近交衰退的迹象下，我们可能会呼吁开展遗传救援项目。这些情况最有可能出现在有效群体规模非常低时（大约或低于10个个体）。在其他情况下，我会建议慎用移植和再引入计划，尽管保护生物学家可能会要求考虑引入的群体大小以确保再引入群体的未来适应性程度。基于理论观点，Lande 和 Shannon（1996）指出“演化生物学家和遗传学家通常认为增加遗传变异总能提高群体存活率。然而，这并不总是合乎人意”。正如黄条蟾蜍的遗传变异允许对环境变化产生微进化响应，但这些变化可能并不总是适应的，不论现在是否有选择压力，适合度与遗传多样性的负相关可能会抑制演化响应。

6.2 数量性状的变异 Q_{ST}

如第 2 章所述，F_{ST} 测量的是群体间的分化程度，且其分化只涉及两种中性选择过程：由于有性生殖（如遗传漂变）和迁移导致的等位基因的随机丢失。一种计算 Fst 的方法是通过计算群体间的遗传分化占整体遗传分化的比例，公式如下：

$$F_{ST} = V_a/（V_a + V_b + V_w）$$

其中，V_a 是样本间的遗传方差分量；V_b 是样本中的个体间遗传方差分量；V_w 是个体中的遗传方差分量（Weir and Cockerham 1984）。

需要重点指出的是，F_{ST} 只是用来测量由分析位点确证只通过中性过程演化的中性突变。在技术上也完全可以计算已经或正在接受选择的基因位点中的 F_{ST} 值。由于受到了选择作用，在这样的位点中计算得到的 F_{ST} 值会偏离在中性位点上观察到的 F_{ST} 值。一般受到选择压力下的净化选择（负选择）的位点将比由中性位点估算的有更少的分化，而受到每一个亚种群体互相独立的局部选择的位点将比由中性分歧估算的有更多的分异。

对于数量遗传性状，类似于群体遗传分化统计的方法也得到了。在研究案例中，群体分化计算公式是 (Wright 1951, Spitze 1993):

$$Q_{ST} = V_{gb}/(V_{gb} + 2V_{gw})$$

其中，V_{gb}是种间的可加性遗传方差；V_{gw}是种内的可加性遗传方差（专栏 6.1）。

专栏 6.1　由中性分子标记和定量特性等遗传数据推断的群体分化（来自 McKay and Latta 2002，Storz 2002）

假设某些分化的亚群体来源于一个共同的大群体，具有遗传变异 $V_{g(0)}$，每一个分化都由遗传漂变造成。在多基因控制的数量性状中的遗传变异可分为群体内的($V_{g(w)}$)和群体间的($V_{g(b)}$)，它们与等位基因变异的分配有关，例如：

$$V_{g(b)}= 2F_{ST}\ V_{g(0)} \quad (1)$$

$$V_{g(w)}=(1 - F_{ST})V_{g(0)} \quad (2)$$

则该性状的总的变异：

$$V_{g(t)}=(1 + F_{ST})V_{g(0)} \quad (3)$$

于是得到：

$$V_{g(b)}/V_{g(w)}= 2F_{ST}/(1 + F_{ST}) \quad (4)$$

Storz 于是定义一个数量性状类似于 F_{ST}：

$$Q_{ST} = V_{g(b)}/(V_{g(b)}+ 2V_{g(w)}) \quad (5)$$

所以，当 $Q_{ST}= F_{ST}$ 时，是一个中性性状。

正如一些作者所说（如 McKay and Latta 2002；Storz 2002），Q_{ST} 应该从遗传变异成分中计算，而不是从表型变异成分中计算，因为表型受到遗传因素和环境因素的共同影响。最常规的用来取得一个性状的可加的遗传变异的方法，可以使用通常的同质园实验，进行嵌套在群体内的家系个体的嵌套方差分析（ANOVA）方法。

McKay 和 Latta（2002）跟随 Lande（1992），讨论了影响中性性状的 Q_{ST} 的演化动力。N 个群体的变异决定于迁移速率 m 和分子标记的突变速率 V_m。即

$$V_{g(b)}=[(n - 1)V_m]/m \quad (6)$$

然而，群体内的变异由有效群体大小 N_e 和突变速率决定。

$$V_{g(w)}= 2nN_eV_b \quad (7)$$

把方程（6）代入方程（7）得到一个对 Q_{ST} 的估计，简化为：

$$Q_{ST}= 1/\{1 + 4N_e m[n/(n - 1)]\} \quad (8)$$

这和岛屿模型中大样本同类群中的 F_{ST} 相同。使用溯祖时间（最近共同祖先）的概念可以进行一个相似的论证。

这些推导说明可以检验中性过程下给定性状的演化的零假设，假如 Q_{ST} 偏离 F_{ST}，就可能拒绝零假设。

类似于所谓的中性和非中性位点，当 $Q_{ST}<F_{ST}$ 时，表明在整个研究过程中涉及均一稳定的选择作用；当 $Q_{ST}>F_{ST}$ 时，在一些或者每一个群体中的选择是多样

的；当 $Q_{ST}=F_{ST}$ 时，零假设即随机过程（如遗传漂变）是观测到的分化的原因并不能被推翻（图 6.3）。

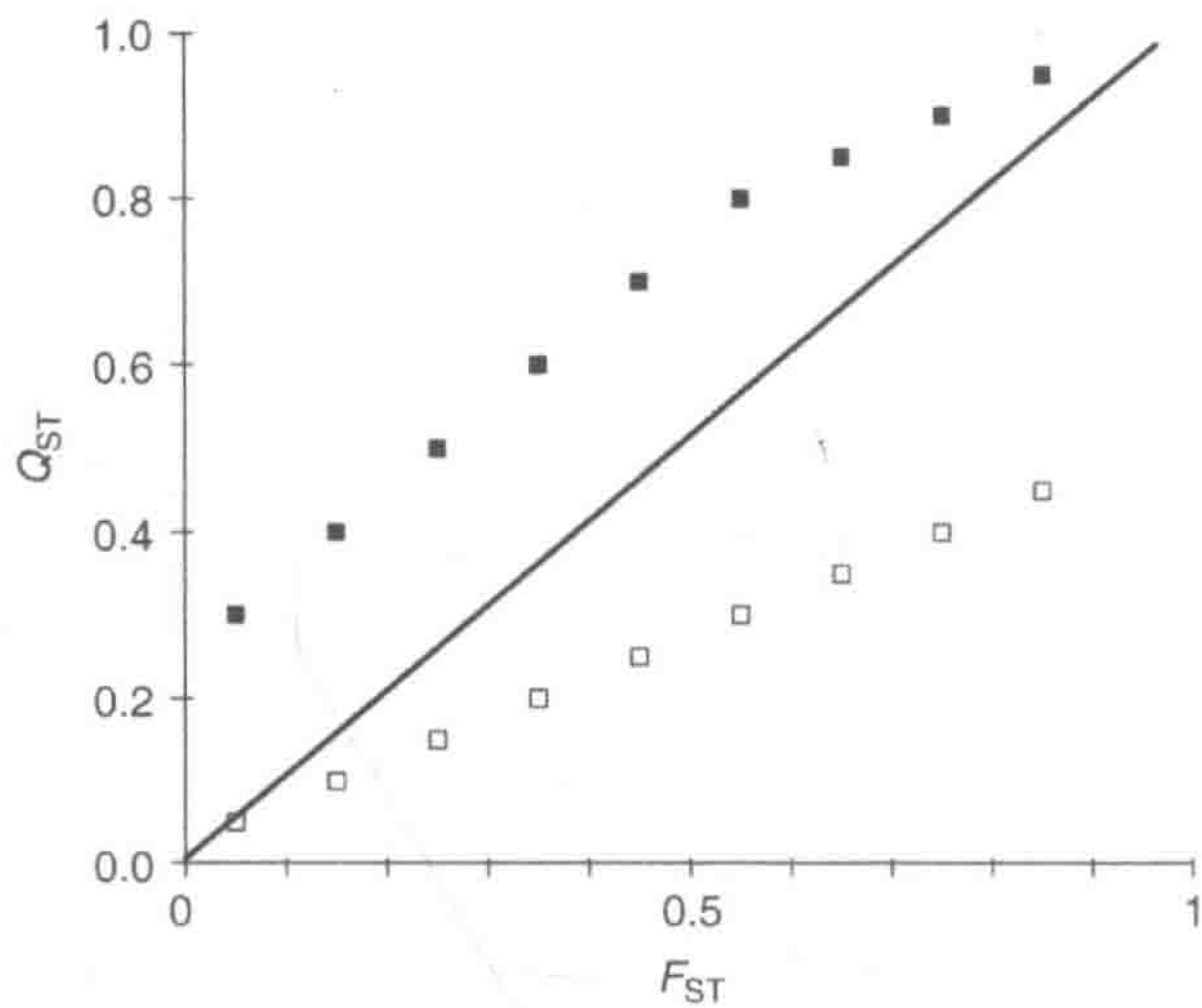


图 6.3 假设的 Q_{ST}/F_{ST} 关系图

白色方框描述了 $Q_{ST}<F_{ST}$ 的情形，暗示群体范围上存在稳定化选择。黑色方框描述 $Q_{ST}>F_{ST}$ 的情形，以及何时多样化的自然选择比预测的随机遗传漂变（直线）导致更多差异

6.3 F_{ST} 和 Q_{ST} 的比较

自 1993 年 Spize 首次发表以来，Q_{ST}-F_{ST} 的比较研究一直在增长（Leinonen et al. 2008）。三篇论文回顾了比较 Q_{ST} 和 F_{ST} 估计值的研究（Lynch et al. 1999；Merilä and Crnokrak 2001；McKay and Latta 2002）。三篇论文均发现 Q_{ST} 的估计值在野生群体中普遍超过 F_{ST}，以至于其中的数量性状差异可能比分子标记计算出的遗传变异要大（图 6.4）。这些结果在 Leinonen 等（2008）的多元分析中得到进一步证实：Q_{ST} 比 F_{ST} 平均值高[平均偏差为 0.12 单位（标准差为 0.27 单位）]。对这一结论的一般性解释为，受到不同局域选择压力介导的自然选择持续作用于控制数量性状的基因，因此导致了更大程度的分化。

欧洲河鳟（*Thymallus thymallus*）群体显现的较小地理尺度上的高度分化的遗传结构，暗示了不同群体中的产生了局部适应（Koskinen et al. 2001）。1880 年一个欧洲河鳟群体在挪威的一座微山湖中建立起来，这一群体的鱼随后被用来作为两座其他山湖的奠基群体，直到 20 世纪 20 年代（Koskinen et al. 2002）。不管有效种群的大小是多少，这些群体在许多生活史性状中都存在分化，如生长率、存活率和孵化时间，通过比较更多这样的性状，并通过中性微卫星标志物来定量遗传差距，比较 Q_{ST} 和 F_{ST}（图 6.5）。这些结果说明生活史性状可能被快速反映到局

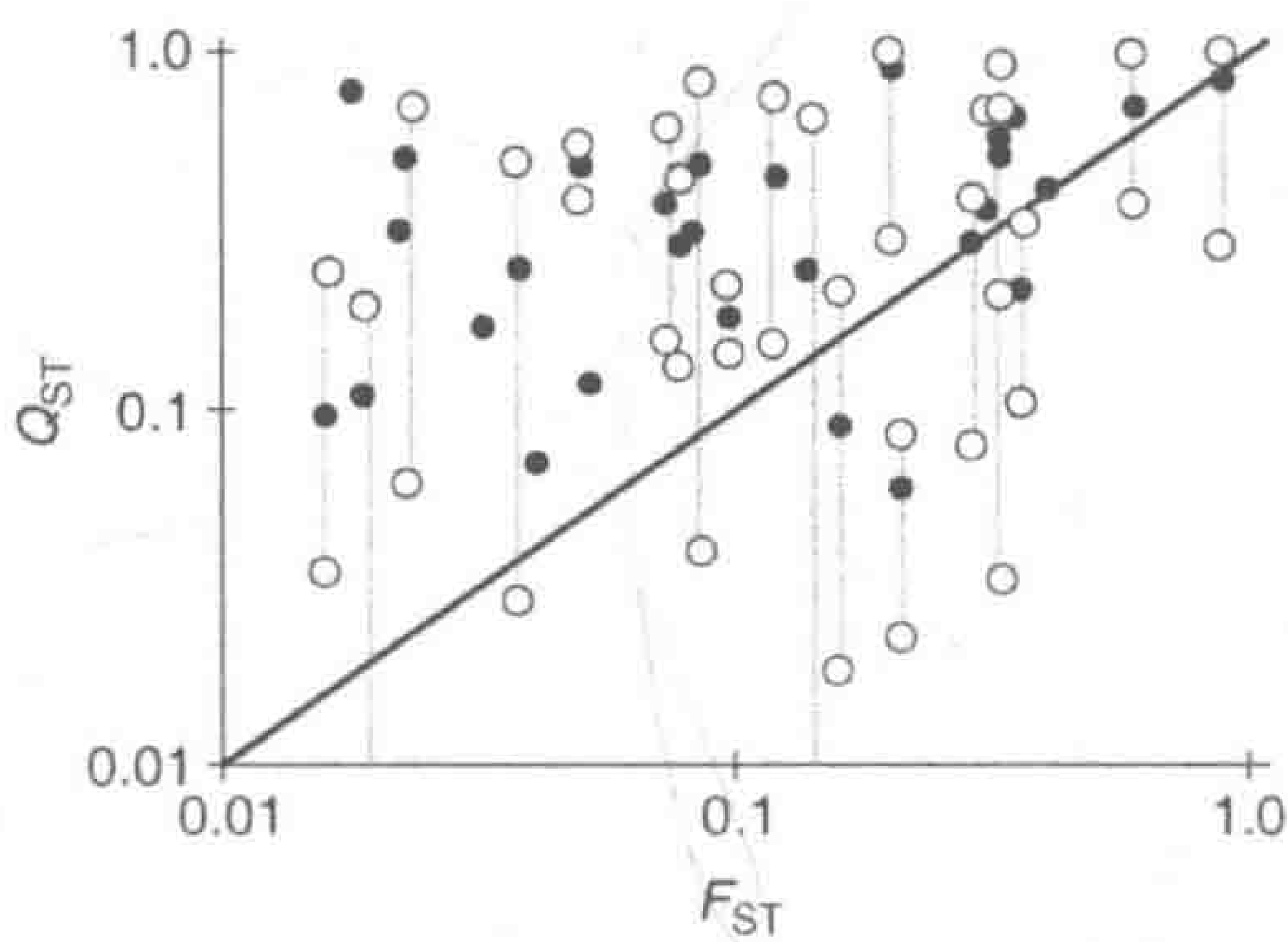


图 6.4 29 个物种中 F_{ST} 和 Q_{ST} 的值

实心圆点代表给定物种 F_{ST} 和 Q_{ST} 的平均值，竖线和空心圆点代表不同数量性状的 Q_{ST} 的大致范围。斜线是等期望线（引自 McKay and Latta 2002，在出版商允许下重新绘制）

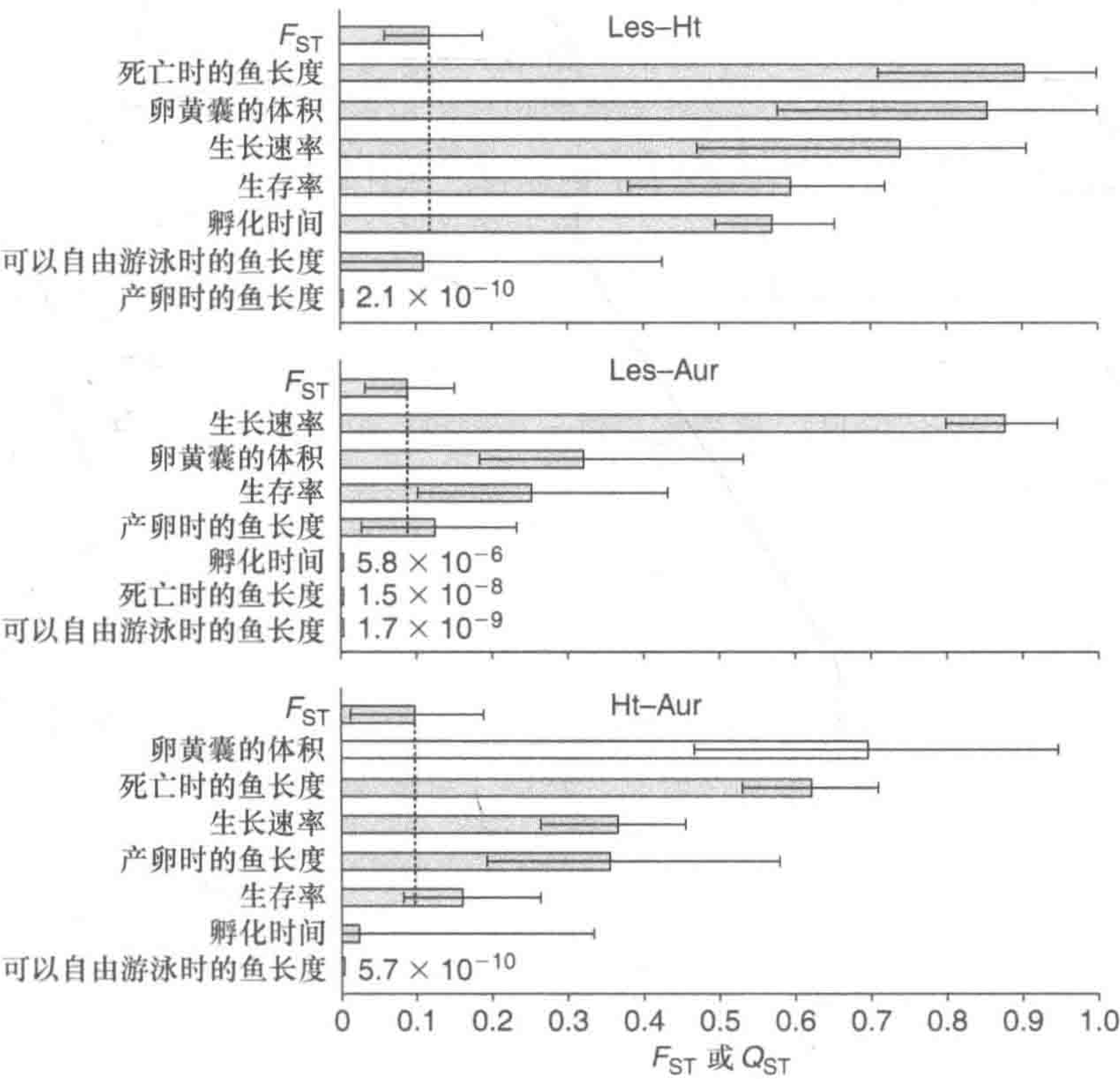


图 6.5 对于挪威的欧洲河鳟群体的 F_{ST} 和 Q_{ST} 估计

每张图是对三个群体的两两比较：Lesjaskogsvatn 湖（Les）、Hårrtjønn 湖（Ht）、Aursjøen 湖（Aur）。水平横条带有 95%的置信区间（引自 Koskinen et al. 2001，在出版商允许下重新绘制）

部选择区域的差异上，假如选择足够强烈，适应性差异可能在短期内演化。如果这是普遍正确的，对保护生物学家是好事，因为这意味着被引入的茴鱼群体可能经历了快速的演化出现了对适应局部生态环境的最优化表型。

然而，其他研究表明，应该有更谨慎的态度。对两种濒危植物的研究（海岛芸薹（*Brassica insularis*） 和矢车菊（*Centaurea corymbosa*）表明，Q_{ST}可能比F_{ST}-更小（Petit et al. 2001）。作者发现，在每一个物种中使用等位酶得到的θ_{ST}值（一个类似F_{ST}的指标）很高，意味着研究群体存在较低的基因流。然而，特别是海岛芸薹，Q_{ST}比θ_{ST}更低，意味着在每一物种中的研究经历了数量性状的相似选择。他们测量了典型的形态性状如叶片、轴数、叶长、叶宽和花结性状（一个反映繁殖状态的生活史性状）。

任何对给定F_{ST}/Q_{ST}的解释都是值得商榷的（O'Hara and Merilä 2005）。首先，确认估计Q_{ST}是基于加性遗传变异，而不是由非加性遗传效应［显性和（或）上位效应（epistasis)］或环境影响引起的增加是很重要的（Storz 2002）。此外，对不同等位基因频率的基因位点和显性关系的相互作用影响仍然知之甚少（Goudet and Büchi 2006）。最后，有可能在F_{ST}和Q_{ST}都产生计算偏差。上位遗传变异可能增大对Q_{ST}的估计（Lynch et al. 1999），并且当许多变异位点用来估算F_{ST}时，F_{ST}的估计上限会降低（Hedrick 1999）。研究还进一步指出，由于引入的数量性状变异比分子标记具有更加快速的突变，数量性状的引入程度通常超过分子标记的引入程度（Lynch et al. 1999）。这些作者进一步强调，由于随机过程如遗传漂变和奠基者效应引起的群体分化，可能通过数量性状而不是用分子标记检测到。这是因为一些分子标记（特别是等位酶）可能多态性水平较低，并且因此可以固定到群体中。这也存在与Q_{ST}和F_{ST}估计值的偏差和精度相关的统计问题（O'Hara and Merilä 2005）。

在上述讨论的这些问题中，基因的显性看起来好像是一个小问题（Goudet and Büchi 2006），许多人也还没解决好它。然而，可能需要在实际研究中比平常对更多群体取样（通常超过 7 个）来解决统计问题，并采用适当的重取样技术来估算它们的变异情况（O'Hara and Merilä 2005）。

6.4 应用于保护研究的 Q_{ST}

人为造成的栖息地破碎化对中性和适应性遗传变异影响的研究仍然很少。Johansson 等人使用来自瑞典南部的连续或片段化栖息地里生存的林蛙，进行了同质园实验中，发现了与适应相关的性状的平均值之间的正相关关系（卵和幼蛙的

存活概率及身体尺寸），并使用微卫星标记估算了每个群体的遗传变异（Johansson et al. 2007）。在片段化栖息地的 F_{ST} 往往比连续栖息地的更显著，这表明栖息地片段化增加预期的中性群体遗传结构。然而，在连续的栖息地，Q_{ST} 超过了 F_{ST}，但在片段化栖息地并非如此（图 6.6）。这些结果表明，相对于自然选择而言，遗传漂变作用对片段化栖息地里的小群体的作用更强，与连续栖息地的群体相比，这些小群体的遗传多样性和适应性都更低。

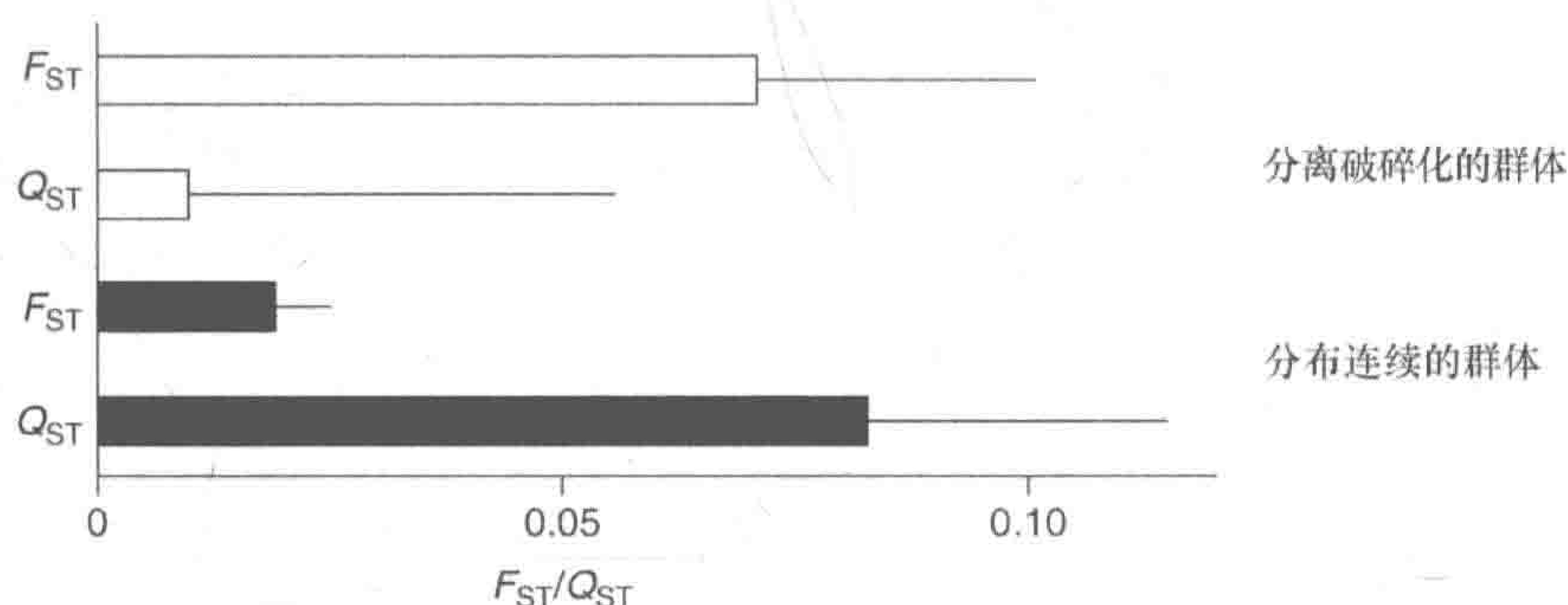


图 6.6 对片段化（空心横条）和连续景观（实心横条）的个体大小（由体重干物质测量出 Q_{ST}）及 7 个微卫星位点（F_{ST}）的种间差异（±1 SE）的估计（引自 Johansson et al.2007）

然而，F_{ST}/Q_{ST} 比较的结果可能是不可预测的。在两个濒危植物物种——海岛芸薹和矢车菊的例子里面，Q_{ST} 值比 F_{ST} 值小，在每种情况下 Q_{ST} 与地理距离之间没有关系（Petit et al. 2001）。相比之下，F_{ST} 与地理距离呈现正相关关系（"距离-隔离模型"）。这表明，使用 F_{ST} 作为 Q_{ST} 的下界，可能高估了这些濒危物种的演化潜力。作者认为，对于地理上局限分布的特有物种，生态位往往受到限制，同质化选择压力可能作用于整个群体。

另外，由于群体变得非常小的时候，受到限制的扩散能力可能会在这些情况下造成群体强烈的中性分化。目前看来，在这种情况下，增加个体或重新引入新个体计划将是恢复这些濒危物种很好的策略。然而，作者都谨慎地指出，尽管采取了很多的努力，近交衰退仍有可能是这些保护措施的结果，因为其他个体仍然存在着由于局部适应而共同演化的基因组合。

如上所述，采用合适的方法对 Q_{ST} 估算，它要求该数量性状的变异可作为加性遗传成分测量，否则 Q_{ST} 估计值可能因为环境因素而增加（Storz 2002）。最常用的估计加性遗传变异的方法是通过同质园实验估计半同胞的遗传力。然而，对于许多濒危和受威胁的物种，这是不可行的，或根本不可能的操作。因此，有些作者已经使用了表型变异，方差分量来自对群体变异因子的标准分析。

Storz（2002）采用这种方法对一种印度果蝠——犬蝠（*Cynopterus sphinx*）的身体大小变化进行研究。为了比较更有意义，他认为身体大小的遗传力为 0.5

(Falconer and MacKay 1996)。人们发现，解释具有遗传漂变群体间所观察到的遗传差异时，不得不假定较高的遗传力。

我们采用了一种相似表型方法 $Q_{ST}(P_{ST})/F_{ST}$ 来研究在北欧两个地区的斑腹沙锥（*Gallinago media*）受选择作用的空间变异。两个地区之间具有较高的形态分化，尽管选择中性遗传标记物测得的群体遗传差异很低。然而，区域内的群体表现出非常小的中性遗传和性状差异。为了能够得出 $Q_{ST}>F_{ST}$ 的结论，我们通过敏感性分析测试了结果的鲁棒性，我们对性状反映的加性遗传变异采取了不同的基本假设。我们发现，无论我们如何改变假设（即改变在计算 Q_{ST} 的时候可加性遗传性状所占的比例），我们的结论依然可信。基因流的均化效果（或中性分歧很短的时间）显然由不同的自然选择抵消，反映在跗跖长和白色尾羽上（图 6.7）。喙长度显示，在群体均一的稳定化选择下，测量 Q_{ST} 是否确实比 F_{ST} 要难很多，因为 F_{ST} 接近零，还受到 Q_{ST} 变化的影响。

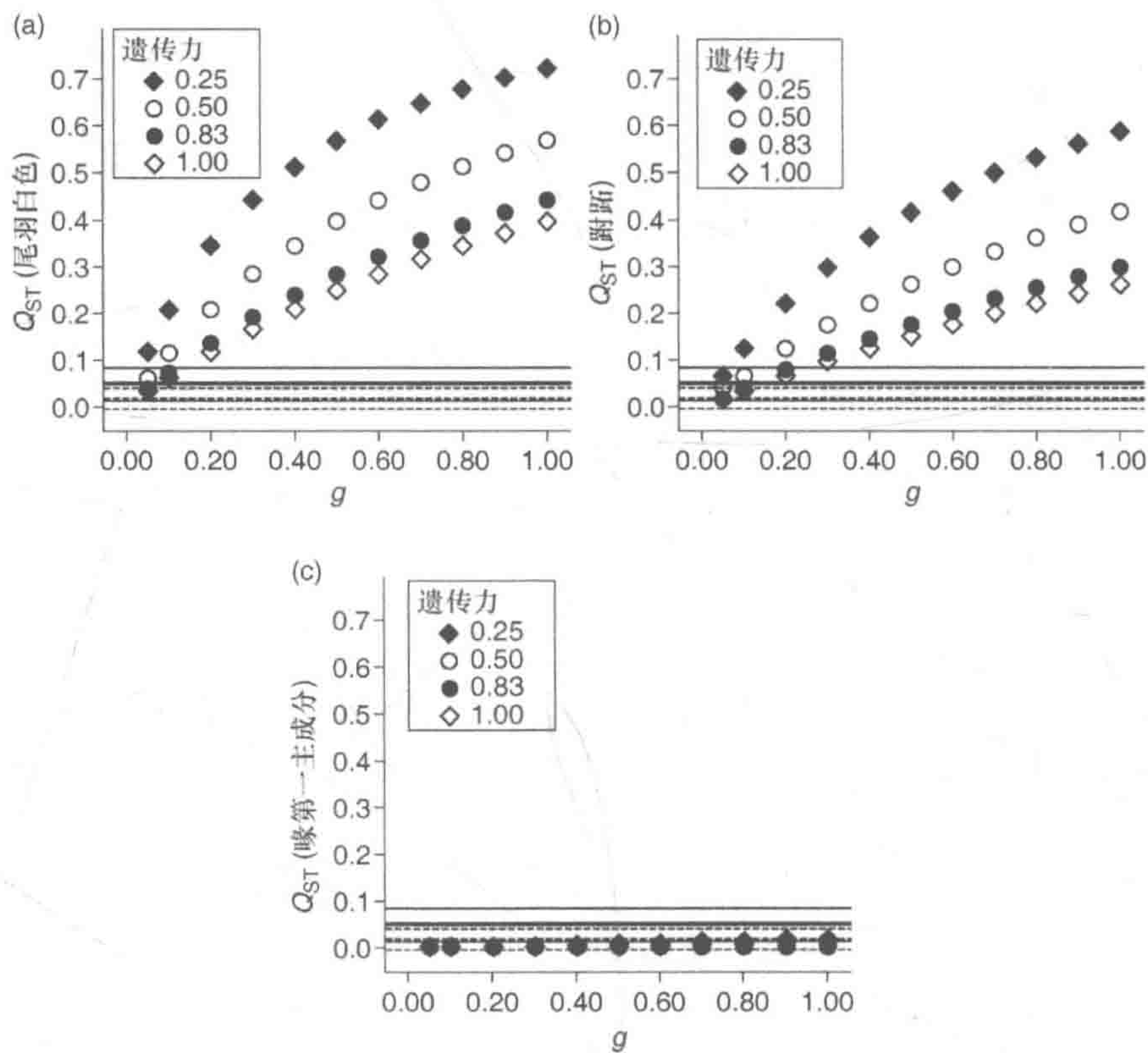


图 6.7 Q_{ST} 敏感度点状图，改变额外的遗传成分在两个群体间（g）和种内（heritability）的变异成分 Q_{ST} 通过对照斑腹沙锥两个地区的性状差异计算得到。中性分化估计通过带有 95%置信区间的水平横条表示（粗实线代表 R_{ST}；虚线代表 Weir - Cockerham F_{ST}）。Q_{ST} 对于白色尾羽（a）和跗跖长（b）认为比大多数参数空间的中性遗传变异为大，而鸟喙长（c）的 Q_{ST} 则相等或小于 F_{ST}

我们的方法和上述其他研究的意义在于说明中性标记可能误导识别演化显著单元，但 Q_{ST}/F_{ST} 方法有许多误区，结论取决于性状的本质。在保护生物学的大背景下，如果打算确定 Q_{ST}/F_{ST} 之间的总体关系，对于物种的生物学和性状本身，以及选择机制有先验的认知是非常重要的。例如，光周期性这样的性状，可以用来预测纬度差异，而居住在同一纬度的群体即使其他因素不同，也有可能产生相似的光周期响应。另一方面，可能其他因素会和光周期适应性响应共同变化，如海拔因素，这可能是因为局部选择创造了此类群体对日长不同的响应。

对于许多保护物种，我们不能随意采取同质园实验，除非能用最严格的方式进行 Q_{ST}/F_{ST} 研究。当排除了同质园实验后，采用适当的敏感度分析得到的 P_{ST}/F_{ST} 方法可能是有价值的。

6.5 结　论

局部适应实际上是普遍的，因此在对受胁物种群体实施保护措施的时候需要随时考虑。局部适应可以通过直接的异时方法或者间接的同步方法检测。另一种检测和研究局部适应的方法是比较数量性状 Q_{ST} 值和取自中性标记的 F_{ST} 值的大小。如果 Q_{ST} 比 F_{ST} 大，视为自然选择比遗传漂变引起的背景导致更大的群体分歧。保护研究的一个目标应该是找到并管理野生群体，让它们能响应局部适应，并适应它们生存的环境。在野生群体中，有效群体大小（越小意味着更少的变异）、突变和选择互相影响来决定被保留的变异量（Lande and Barrowclough 1987）。正如在第 1 章中讨论的那样，大于 500～5000 的 N_e 的推荐值应该作为实践中的目标（Franklin 1980；Lande and Shannon 1996）。

本章及前一章已经解释了保护生物学的一个有争议的问题和明显的冲突：生态保护者应该以保护和恢复遗传变异本身为目标呢，还是以集中于保护局部适应为目标呢？这取决于变异的本质和其存在的群体的选择类型（Lande and Shannon 1996）。试想一个受到局部适应威胁的、生活在暗背景下的白足鼠黑色群体，显然生态保护者毫不犹豫地禁止引入浅色毛发的老鼠到这一群体中。虽然遗传变异会增多，但同时不适应的毛发基因也会增多。这一例子看上似乎毫无争议，因为毛发颜色和环境是可以明显辨识的。然而，野生群体也可能面临更微妙的自然选择或缺少清楚认识的局部适应机制。所以生态保护者应该十分谨慎，只有在目标群体明显遭遇有效群体大小急剧减少和有近交衰退迹象时才可以考虑引入新的群体。

7　生态基因组学

21 世纪的第一个十年，是被称为“组学（omics）”快速发展的时代。“-omics”这一风靡于世的词尾最早出现在基因组学（genomics）中，但现在也在转录组学（transcriptomics）、蛋白质组学（proteomics）等相似词汇中使用。第一个被全基因组测序的是流感嗜血杆菌（*Haemophilus influenzae*），其基因组序列在 1995 年出版（Fleischman et al. 1995）。到 2007 年，超过 700 个物种的基因组被完整测序（请参阅基因组在线数据库，2.0 版，www.genomesonline.org），并且超过 3000 个全基因组测序（WGS）项目在开展（编者注：截止到 2017 年 11 月，这个数字超过了 16 万个！）。大多数已发表的基因组是细菌的。在真核生物中，WGS 项目主要侧重于真菌、原生生物和植物，兼涉其他类群。40 余种哺乳动物和 6 个鸟类物种的测序正在进行（Segelbacher and Höglund 2008）。WGS 项目主要集中在所谓的模式生物的遗传和生理研究，以及有经济或农业效益的物种。不过，有些物种的全基因组被测定，是因为该物种有着特殊的系统发育地位，可使收集到的数据用于比较基因组学项目。

技术的进步和里程碑式的科学发现在科学类周刊中常有报道，很容易使大家去追逐这些热门的领域。毫无疑问，全基因组信息的实用性开启了新的研究领域，不仅在模式物种中引人注目，在相关野外物种中也存在潜在用途。随着越来越多的物种被测序，比较基因组学将有助于识别生态学上所关心物种的功能性 DNA 区域（Travers et al. 2007；Piertney and Webster 2008；Wheat 2008）。这些类型的数据和它们配套的技术在濒危或稀有物种的研究中有多大用处还不太确定。基因组学在生态和进化中的应用仍然在它们的婴儿期，对未来的研究方向作出的任何乐观猜测都还为时过早。目前，WGS 的经济成本超过濒危物种研究的平均花费，应该只有少数受保护的核心物种将接受 WGS 研究。不过，我希望在这一章中清楚说明，其中的一些工具和技术也可以应用于基因组信息有限的物种。

7.1　全基因组测序

基因组学是全基因组的科学，关注重点在于整个完全测序的基因组，如其中的基因组结构、基因组大小、基因数目、基因序列和基因的共线性（Pagel and Pomiankowski 2007）。典型的问题是：遗传信息在基因组内如何分布？那些调控表型的基因在基因组里的分布是怎么样的？具有功能的 DNA 与垃圾 DNA 在基因

组里的分布程度如何？基因组里转座子的分布程度如何？尽管这些都是基因组和分子进化中十分有趣和重要的研究热点问题，然而很显然，一般的保护生物学家很少去关注它们。可是，给定一些基因组信息，可以提取一些对保护有用的数据。我将在本章后面综述这些应用，不过首先我将简要介绍用于收集分析的数据和技术的类型。

任何基因组研究项目做的第一件事，当然是收集许多测序数据。在模式生物中，这类研究的模式生物通常是几个隔离群体或研究物种的近交系。直到最近，WGS 项目都是使用传统的 Sanger 测序（即“第一代”测序），根据不同的生物体，涉及大量的克隆和兆碱基测序。即使是中等规模的基因组，这些项目也需要几年时间才能完成，且需要庞大的资金支持。目前，快速和廉价的测序技术（Wheat 2008）带来巨大进步。最近，已经建立了替代 Sanger 测序的方法，如并行焦磷酸测序（pyrosequencing），可提高真核基因组和转录组的测序覆盖度（Bainbridge et al. 2006；Cheung et al. 2006；Weber et al. 2007；Vera et al. 2008）。这些重大的技术发展使收集非模式生物的基因组数据成为可能。

虽然对每个物种或保护生物学研究的自然群体在基因组测序资源方面投入巨资不太现实，但所谓的表达序列标签（EST）是相对廉价的基因组资源，几乎可以为任何生物体进行开发（Bouck and Vision 2007）。EST 是从 mRNA 库的部分序列中产生的单端序列。逆转录酶用于生产 cDNA，然后将其克隆到载体文库并测序。接着 EST 文库提供一组给定组织、发育阶段、环境条件和基因分型的转录 mRNA 的快照（Rudd 2003；Dong et al. 2005）。在这之前，对 EST 的 Sanger 测序获得了转录组数据（Adams et al. 1991）。尽管在过去的 30 年中对 Sanger 测序方法不断改进，这种方法仍然费时、费工并且昂贵。相比之下，使用 454 焦磷酸测序或类似的技术，一个 8 小时的测序过程可以产生兆级别数量的碱基的 DNA 序列，并且不涉及任何克隆步骤（Margulies et al. 2005）。平行焦磷酸测序产生随机破碎的测序片段，如果片段足够丰富，可以覆盖整个转录组（基于 mRNA）或基因组（基于 DNA）。

一般的保护生物学实验室可能会在室内装备 Sanger 测序平台或对样品预处理，使商业测序的价格较为合理。然而，对大多数想要组建焦磷酸测序平台专家实验室的保护生物学家来说，拥有相关设备及知识对这类研究的开展就很有必要了。

7.2 如何处理数据？组装和注释

无论方法如何，基因组学研究都会产生海量的测序数据，这些数据的组装和注释不是简单的任务。比如下文中庆网蛱蝶（*Melitaea cinxia*）的研究（Vera et al. 2008），使用 454 焦磷酸测序数据从头组装真核生物转录组，就是这种在生态学上研究充分但基因组上还未知的物种的一个很好的例子。

目前可用于组装的专业统计工具和软件包有很多（见 Wheat 2008 的综述）。简而言之，它们在方法上的特点就是，先经过过滤剔除原始序列中的低质量片段数据，剩下的进入组装阶段。接着，比对高质量的片段，合成重叠的序列组成连续序列（所谓的重叠群 contig）。不重叠的片段留作单独片段。

对庆网蛱蝶的研究使用了两组标准化的互补 DNA 样品，即从研究区域收集的大约 80 个个体，包括幼虫、蛹和成虫。使用 454 测序产生了 608 053 个 EST，其中 518 079 个超过了最低质量标准，进入组装程序，每个 EST 平均为 110 个核苷酸长度。把它们组装成了 48 354 套重叠的 DNA 片段（重叠群）和 59 943 个单独片段。出于质量控制的目的，他们也用 Sanger 测序获得了庆网蛱蝶 cDNA 文库中的 3888 个序列片段。利用这种技术，他们得到了 364 个平均长度为 574 个碱基对的重叠群。总体来说，他们发现了 454 测得的 EST，与用传统方法获得的 EST 具有较好的一致性。

这个研究的作者们随后比较了他们的数据和互联网数据库中已存入的其他生物的序列，如果蝇、基因组充分研究的家蚕及艺神袖蝶 *Heliconis erato*，并确定它们测序和组装的精度。他们找到约 9000 个独立基因和超过 6000 个额外的未注释重叠群。通过基因芯片的分析，这些未注释重叠群被确定为表达基因。覆盖范围的平均深度为 6.5×，这意味着转录组每一个序列测了 6 次左右。这个例子显示了基因组研究充分的参考物种对注释部分基因的效用。

7.3 如何处理数据？进化和生态分析

当序列的注释组装完成后，下一个问题就变成了：该如何处理这些数据？正如上文所述，基因组或转录组的简单描述性统计对保护项目毫无帮助。幸运的是，全基因组或转录组测序可以助力功能基因组学研究。这样的研究出于某些限制，至今仍主要应用于一些模式生物。然而，基因结构和功能基因序列中的保守性使得这样的工具也可以在非模型物种中使用。有些所谓的看家基因，即编码参与细胞生理学过程的蛋白质的基因，已在许多生命形式中保留了数百万年。显然，在模式生物研究中的发现可以应用到近缘种中去。例如，拟南芥（*Arabidopsis thaliana*）中的发现可应用于同属的其他物种。类似的，在家鸡（*Gallus gallus*）中的研究结果，可以应用到其他鸡形目物种中。最近，家鸡中雌性鸡冠大小的数量性状位点（QTL）被证明与雌性生殖投入存在确定关系（Wright et al. 2008）。这样的结果是否可应用于非模式生物，以及它们和模式生物的系统发育距离如何，取决于所研究的特定序列的保守性。

目前，很少有大规模的基因组研究非模式生物自然群体生态适应的遗传多样性问题。这个问题可以用鸟类举例。鸟类在生态上闻名遐迩，因为对它有长期的

生态研究传统。在鸟类中，基因组结构和基因序列信息研究最多的物种是鸡形目的家鸡（www.ncbi.nlm.nih.gov/projects/genome/guide/chicken/）和雀形目的斑胸草雀（http://songbirdgenome.org/）。然而，这些模式系统对其他鸟类物种的基因组资源的借鉴作用很可能比较有限，因为鸡已经历许多代的驯化，雀形目在进化上与其他鸟类类群截然不同。

在现今的生物多样性丧失危机大背景下，保护生物学家需要工具来定义物种，并在资源有限的情况下确定需要优先保护的类群。有人认为，这些被称作管理单元或演化显著的单元需要被定义为群体统计学及进化上独立的群体和家系（详见第 8 章）。如何最好地定义这样的单位还不清楚（Crandall et al. 2000）。Beaumont 和 Balding（2004）强调说："到目前为止，群体间适应趋异的程度已经可以通过遗传上的独特性（如线粒体序列中互为单系占据的位置）来测量。然而，这种独特性，如果只是基于线粒体 DNA 或几个核基因（中性），反映出的群体历史很可能不大相同。我们需要的是能够量化群体在其局部适应中的独特性 ，也可以只涉及几个基因，但必须是关键的功能基因"（参见 Luikart et al. 2003）。

那么问题就归结为识别和定位自然群体中基于适合度差异和适应趋异的基因（Luikart et al. 2003；Vasemägi and Primmer 2005；Butlin 2008；Piertney and Webster 2008）。要做到这一点的一种方法是，测试是否能够在自然群体基因中找到与适合度相关的遗传变异，所需的基因在参考物种基因组里具有一个已知功能（即候选基因方法）。然而，用这种方法是不可能在非模式物种中找到新的功能基因的。另一个极端是利用基因组扫描检测选择信号的研究（如 Cork and Purugganan 2005，图 7.1）。对多基因性状的净化选择和多样化正选择，它们对多基因 QTL 等位基因变异的影响模式都是可预测的，因此对特异基因座位点的选择作用相比于其它位点的随机变异更容易被检测出来（Storz 2005）。Vasemägi 和 Primmer（2005）呼吁使用互补组合的研究策略来找到功能上重要的位点，具体的策略可参见专栏 7.1。

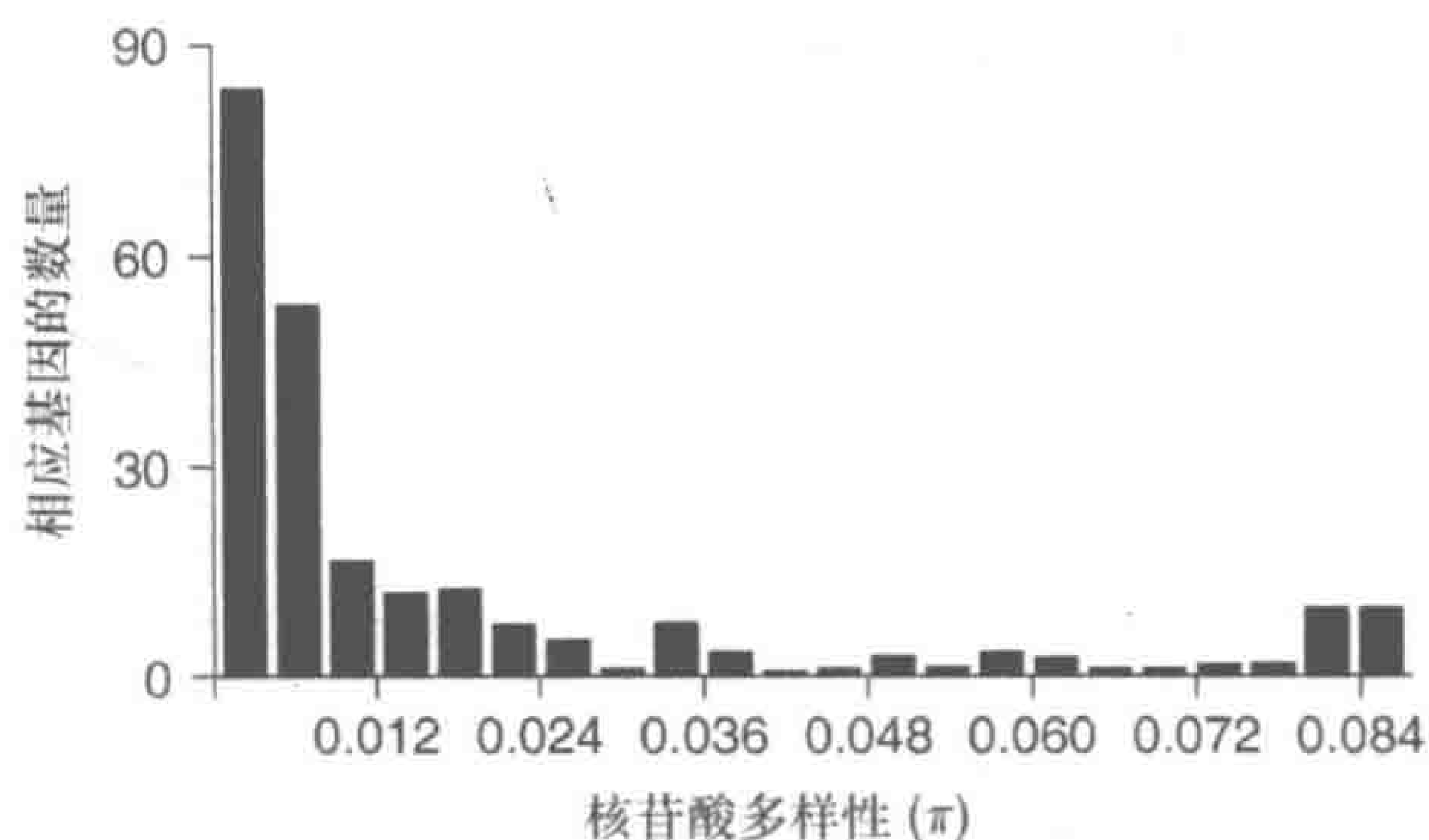


图 7.1　拟南芥二态基因的核苷酸多样性的分布（引自 Cork and Purugganan，2005，在出版商允许下重新绘制）

专栏 7.1　检测重要的功能性位点遗传变异的方法

根据沿基因型-表型转移的途径这一研究焦点，分为自下而上和自上而下的检验方法（Vasemägi and Primmer 2005）。

单基因位点和基于序列的中性检验方法

如下所列为统计检验方法，检验一个特定的 DNA 序列是按中性模型进化，还是按稳定化或自然选择进化。检验所用的例子亦如下所列。

• 偏离预期的哈迪-温伯格基因型在群体中的比例（Watt and Dean 2000）。

• Evens-Watterson 测试使用了等位基因频率分布的概念，若在特定区域比中性标记预期的有更多连锁不平衡和更少遗传变异，则检验生效。

• 检测过去的选择线索的测试方法有 Hudson-Kreitman-Aguadé（HKA）检验和 Tajima's *D* 检验，它们基于等位基因分布和（或）序列变异的程度（Watterson 1977；Hudson et al. 1987；Tajima 1989；Fu and Li 1993；Fu 1996；Fay and Wu 2000）。

• 基于非同义替换数与同义替换数比值（d*N*/d*S* or KA/KS）的检验和 MK（McDonald-Kreitman）检验（Hughes and Nei 1988；McDonald and Kreitman 1991）。MK 检验基于若观测到的变异是中性的，那么种间的替换速率和种内的变异数量都是突变速率的函数。所以表现种间差异的非同义突变对同义突变的比值和种内非同义突变对同义突变多态性的比值相同。

• 检验 DNA 序列中选择作用的统计检验方法的综述见于 Kreitman and Akashi（1995）、Kreitman（2000）、Otto（2000）、Ford（2002）和 Garrigan and Hedrick（2003）。

• d*N*/d*S* 比值检验的综述见于 Nielsen（1997）、Yang and Nielsen（2000）和 Bierne and Eyre-Walker（2003）。这些检验方法中一部分可以准确评估哪个核苷酸位点受到自然选择作用（见案例，Nielsen and Yang 1998；Yang et al. 2000；Suzuki 2004；Massingham and Goldman 2005）。

基于多重分子标记的中性检验

来自许多位点的信息也许可以检验任何位点是否偏离中性零分布。对玉黍螺与欧洲林蛙扩增片段长度多态性（AFLP）和环境变异的研究就是这样的例子（Wilding et al. 2001；Bonin et al. 2006）。

Lewontin-Krakauer 检验（1973）用于评估群体间给定位点的变异。理论上来说，所有的位点受到相同数量的遗传漂变和基因流，所以群体的预期变异应该是相同的。然而，群体间不同程度的自然选择作用增加了变异。另一方面，群体间的平衡选择增加了变异。这一检验方法已被用于鉴定离群位点（见 Luikart et al. 2003；Storz 2005）。

mRNA 表达差异的 QTL 定位

mRNA 转录的连锁图谱用于鉴定基因组的特定区域，这些区域与基因表达水平差异有关（Jansen and Nap 2001；Doerge 2002）。这一方法需要针对研究物种或理想近似物种定制的基因芯片，所以这一方法可能对保护生物学家价值有限。

等位基因特异性 mRNA 表达分析

基于基因转录区多态性的杂合个体交替等位基因的表达水平估计（Buckland 2004；Knight 2004；Yan and Zhou 2004）。

蛋白表达差异的 QTL 定位

连锁图谱和蛋白质表达分析用于鉴定基因组的特定区域，它们与谱系中定量和定性蛋白质表达水平的变化相关（Gorg et al. 2004）。与前一种方法一样，这种方法受到限制，如需要大量的家庭谱系材料和适量的新鲜组织，因此在保护研究中可能具有有限的价值。

然而，已证明基因调控的研究在对各种胁迫如干旱的研究中具有重要意义（de Vienne et al. 2001），因为它与保护直接相关。

环境关联分析

该分析方法评估了环境变量和特异性等位基因之间的显著相关性。这可以作为影响特定基因座定向选择的证据。研究可以是时间上的（及时跟踪同期的群体）或空间上的，甚至在空间小尺度上进行（Johannesson et al. 1995）。

QTL 分析（连锁图谱）

如果存在遗传连锁图谱信息（即标记物定位在哪些染色体上的信息），可追踪标记物分离的家庭谱系材料和谱系中个体的表型数据，我们可以测试标记物与某些感兴趣的生态性状的关联性（Erickson et al. 2004；Slate 2005）。这种技术已广泛用于模式生物和驯化物种之中（Andersson and Georges 2004）。

群体混合作图

这是与上一个方法相似的技术，但是在这里，群体之间的关联及其实验回交被用来鉴定非随机分布的性状和基因组区域（Rieseberg and Buerkle 2002；McKeigue 2005）。

关联分析（连锁不平衡图谱）

通过利用在连锁基因座处非随机出现的等位基因，测定家族或群体内的目的表型性状与某种基因型（或单倍型）的非随机关联，称为连锁不平衡（LD）。这种方法要求基因组的大部分被大量的遗传标记物覆盖。例如，有研究者建议在人类中需要 100 万个随机的单核苷酸多态性（SNP），来为关联分析产生合理的全基因组覆盖度（Hirschhorn and Daly 2005）。显然，这对于大多数保护关注的物

种来说是不合理的。然而，使用这种方法的非模式物种的大多数研究集中在有限数目候选基因间的连锁不平衡。例如，已对主要组织相容性复合物基因（*Mhc*）和免疫应答之间的关联进行了鉴定（见 Bernatchez and Landry 2003；Garrigan and Hedrick 2003 的综述）。

很显然，没有任何单一策略涵盖理解生态上重要性状的遗传基础的全部方法。基本上有两个几乎完全不同的研究传统需要融合。一方面，分子生态学的研究人员长期以来一直使用植物和动物育种中常用的数量遗传方法。照这样的话，以遗传力形式表现的累加的遗传变异已经在野生群体的许多重要生活史性状中得到了应用（见第 2 章）。数量遗传学中的统计新进展重振了自然群体的数量遗传学研究（Frentiu et al. 2008；Ovaskainen et al. 2008）。然而，另一方面，在确定基因组区域和生活史性状变异背后的功能基因方面，却少有进展（见下文的例子）。从基因反映到生态，需要将分子遗传学、功能遗传学和基因组学的研究传统整合起来。这项研究传统上一直专注于几个模式生物，常常很少从生态的角度来描述。因为不言而喻，没有任何模式生物的上述信息属于保护生物学家关注的濒危物种范畴。

Luikart 等（2003）引进群体基因组学的概念，定义它为“众多的位点或基因组区域的同步研究，以更好地了解影响基因组和群体变异的进化过程（如突变、遗传漂变、基因流和自然选择）的作用　”。他们提出了以下研究策略：第一步，从尽可能多的群体中对尽可能多的个体取样；第二步，得到尽量多的基因分型位点，最好覆盖到整个基因组；第三步，测试异常位点（如高于或低于 F_{ST} 均值的位点），这些位点可能受到选择的影响而作为候选基因位点；第四步，在排除异常位点之后，使用中性位点计算演化或群体遗传方面的参数。在受到选择的位点中，调查 F_{ST} 值偏高的原因（如自然选选择），并针对生物多样性保护或进化使用适应的信息（图 7.2）。

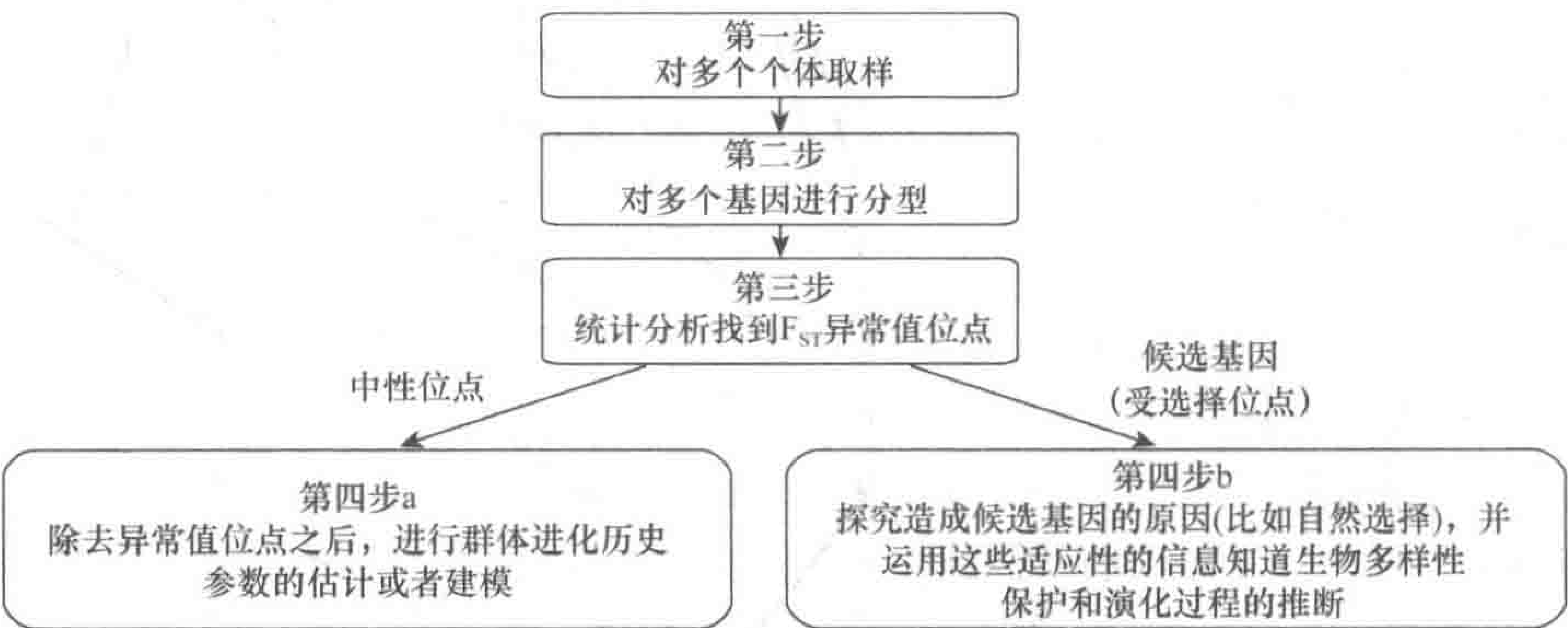


图 7.2　群体遗传学调查的流程图（引自 Luikart et al.2003，在出版商允许下重新绘制）

我们借鉴了 Luikart 等（2003）的研究框架，对柳雷鸟（*Lagopus lagopus*）进行研究。这可能是一个不错的例子。我们对四个群体各 15～18 只柳雷鸟的 18 条常染色体上编码蛋白质的基因位点测序（Berlin 等未发表结果）。从这些序列中，我们检索到超过 100 个独立分离的单核苷酸多态性（SNP；见下文）。我们发现，在斯堪的纳维亚半岛和相距 1647km 缺乏群体结构的柳雷鸟群体都有异常高的核苷酸多样性。没有出现预期的中性位点分化，还存在低水平的连锁不平衡，甚至渗透到基因中，群体重组率较高，表明一个古老的随机交配群体，在重组时有时间打破了大的基因连锁群。和密码子三号位置沉默核苷酸的多样性相比，非同义核苷酸多样性较低，这与有效净化选择一致，可能是因为有效群体大小比较大。在鸟类中，核苷酸级别的变化特异性很差；家鸡和几个雀形目物种在这方面是特例（Backström et al. 2006）。然而，这些研究表明，鸟类的核苷酸多样性较高（大约 10^{-3}），可能的解释是它们和哺乳动物相比具有普遍较高的有效群体大小。我们在柳雷鸟中的发现需要在其他鸟类中进行重复的研究，这样可以增加同义和非同义 SNP 的数目。目前非同义替换太少，以至于不能解决柳雷鸟或其他鸟类适应性遗传变异模式的任何相关问题。随着越来越多的生物标记和更多物种的研究，将有可能对野生鸟类群体遗传变异水平总结出一般性结论，并能检验适应和中性变异分布的假设。如果局部适应在鸟类中是重要的，那么可以推测本地群体和亚种将较中性有更高水平的适应性基因分化。如果是这种情况，受胁鸟类群体应受到相应的管理。

7.4 面向保护的基因组学

由于濒危和相关物种的基因组数据越来越容易获得，基因组的应用和技术有可能变得越来越流行。正如本章前面提到的，来自濒危物种的数据不太可能用于生态遗传学的最前沿，但实验保护遗传学前沿的研究往往对著名的模式物种如果蝇进行研究（如 Bijlsma et al. 1999，2000）。在这些情况下，基因组的资源和技术可转变成有用的。

7.4.1 SNP 检测和基因分型

单核苷酸多态性有许多特性，使它们在自然群体遗传变异研究中成为理想的遗传标记。在一篇关于保护研究中 SNP 使用的综述中，Morin 和他的同事（2004）列举了一些 SNP 的应用。尽管 SNP 比主流的微卫星多态性低，但在整个基因组中更加丰富。此外，SNP 比微卫星在进化中突变更简单。微卫星的重复 DNA 的短延伸序列在细胞中的内源性 DNA 聚合酶出现复制错误时进化，要么错配，要么误删一

个拷贝片段（所谓的 DNA 滑动突变）。这些阶梯状的突变比许多其他类型的突变更有可能发生（每个基因组和世代中出现的比例大约为 10^{-3} 而不是 10^{-6}）。另外，SNP 的突变过程是较简单的，因为它们的进化主要依靠点突变。由于变异较小，在许多应用中需要比微卫星更多的 SNP 来达到足够的分辨率。然而，较少的变异使得趋同性的问题（在相同等位基因状态进化可能超过一次）可以有效避免。

开发微卫星标记的流程是非常明确的，能够适用于任何关于遗传变异的保护遗传学研究。然而，在基因组中微卫星是罕见的，很难在某些生物（如蝴蝶和节肢动物）的基因组中开发。简言之，微卫星可以从限制酶切割的研究物种的基因组 DNA 和植入噬菌粒载体的细菌中找到。基因组文库随后用合成的寡核苷酸重复序列作为探针进行探测。培养细菌克隆样品，并对正向插入的克隆测序。不仅对重复序列，也对围绕重复序列的侧翼序列检测。接着设计侧翼序列的引物。在引物的帮助下，目标 DNA 通过 PCR 扩增后，可在大量个体中筛选等位基因的长度变异。

如上所述，SNP 的发现是一个更为复杂的过程，存在若干策略（见 Morin et al. 2004；Slate et al. 2008 的综述）。一种被称为外显子完全配对–内含子交叉配对法（EPIC）的方法，即使缺少先前的序列数据，也可以通过在相关物种已被测序的蛋白质编码基因中校正外显子序列来设计引物。一对引物，其中的正向引物在一个外显子中设计，反向引物在相邻的外显子中设计，以便其间的内含子可被扩增和测序。测序 DNA 内含子可以使得发现分离的 SNP 的概率最大化。一个相关的方法是比较锚定序列示踪法（CATS）。这种方法使用了最初开发用来在不同生物中定位基因的一系列引物，因此，它们是高度保守的。但并非所有这些引物都会在 PCR 产物中出现，因为大多是在编码基因里面（Lyons et al.，1997）。

寻找 SNP 的第二个主要方法是测序有限数量个体的随机基因片段并比对序列。SNP 是在比对序列来识别分离位点时发现的。可以测序基因组的 DNA 文库中的随机克隆，或使用许多不同的计算机程序挖掘现有的 EST 数据库中的 SNP。显然，454 测序将在这方面非常有用。

SNP 基因分型可以在实验室内进行，但最近的一篇综述建议外包到专业实验室做（Slate et al. 2008）。许多 SNP 基因分型的策略和平台可供选择，选择依赖于样本和 SNP 的数目。高通量基因分型有可能成功，因为 SNP 是共显性基因，可用来简化基因分型，使得大量的样品和 SNP 可快速检测并节约成本。

SNP 可用于评估遗传变异。有人认为，通过使用大量 SNP，可以更好和更有代表性地估计基因组多样性。但是，精度的增加是有代价的。全基因组变异的可靠估计需要 4～10 倍的等位基因扩增片段长度多态性（AFLP）多等位基因标记。然而，显性 AFLP 标记比共显性等位基因 SNP 标记的信息少，因此与 AFLP 位点相比，所需的 SNP 更少。

SNP 可识别个体，并揭示亲缘关系。之前微卫星和 AFLP 这些技术已经可以

做到，还不清楚是否可通过使用 SNP 来提高这些技术。另外，没有迹象表明这些分析技术将会因 SNP 的使用而变差。

同样，SNP 也可用于估计群体结构。从微卫星中推定 F_{ST} 可能会产生问题。Hedrick（2005）表明，F_{ST} 估计值的理论上限不是 1（因为有等位基因位点）；相反，多基因座估计（G_{ST}）的上限可以相当低，Hedrick 建议了一种修正方法来补充其影响。由于选择用于分析的大多数 SNP 是双等位基因，这个问题可能在这些标记中缺少显著性。

在第 4 章的综述中，我们讨论了如何估算有效群体大小在历史的波动问题。在这个问题上，即便使用 SNP 标记也不能很好地改善估算能力。这是因为有些检验表明，多个位点的等位基因变化比一个位点的等位基因变化更有意义。

7.4.2 重要的功能性位点的 QTL 定位

正如第 2 章回顾的，数量性状的变异总是有遗传组分（大小取决于性状和环境）。有人认为，性状受到自然选择，从而表现出对局部条件的适应（第 5 章），这在保护中是尤其重要的。因此，发现和研究 QTL 的分子基础很可能是重要的。

发挥 SNP 最佳优势的应用是定位 QTL，因为 SNP 可在更大的尺度测到，并且比微卫星丰富得多。任何基因组定位均可利用 SNP 进行分析（Slate et al.，2008）。定位是指从 QTL 定位到寻找候选基因的过程。在模式生物中，如实验室大鼠、番茄和牛中的定位实验已经表明，在近亲繁殖的生物中的复杂性状可以具有简单的遗传结构，具有少数与任何特定性状相关联的染色体区域（Flint and Mott 2001）。但是，要从非模式生物中得到类似的结果，还有很长的道路要走。即使在模式生物中，也很难找到一个标记位点与一个性状之间的统计关联性。标记通常被定位到一个给定染色体的约 30cM 长的区域，虽然在该区域内发现了一个候选基因，但还可能找到多个候选基因，因此从中找到数量性状核苷酸的突变是困难的，需要复杂的研究方案和大量的样本。保守推断，在自然群体中定位复杂的性状，连锁图谱是必需的，它可定位遗传标记在染色体上的位置。连锁图谱已经开始出现在一些非模式生物中（Hansson et al.，2005），但在一般受胁物种的保护遗传学研究中还十分罕见。

7.4.3 差异基因表达

微阵列的基因芯片通常用于量化组间个体的全局基因表达模式的差异。在保护遗传学中，该技术可用于筛选转录组中因特殊处理或来自不同群体（如一个受胁群体和一个无危群体）而差异表达的基因。因此，这是一个用于鉴定候选基因更进一步研究的工具（如 Whitehead and Crawford 2006）。

一个经典的基因芯片技术是从已知的 DNA 上取小点（整个基因或部分基因），

通常在玻璃板或硅芯片上收集样品，这些载体可使 cDNA 或 RNA 以一个特定的点阵方式进行混合。混合材料标记有荧光染料，需要和 DNA 小点混合。如果芯片上的 DNA 序列已表达，相应的序列存在于检验样品中，那么相对表达水平可以用染料在每个点的相对强度表示。一些统计检验方法已被用于从两个不同的 EST 文库中鉴定表达基因（见 Ruijter et al. 2002 的综述）。

Kristensen 等（2005）使用基因芯片技术来研究各种近亲繁殖水平的黑腹果蝇（*Drosophila melanogaster*）实验组的表达差异。他们发现，近亲繁殖在转录水平改变了一些基因。差异表达的基因不成比例地参与到代谢和应激反应中，如热激蛋白（HSP）是参与到细胞内蛋白质和大分子折叠、去折叠过程中的分子伴侣。这样的基因在生理压力和老化时期也是正向的。该实验的结果表明，近亲繁殖可能发挥着一个环境胁迫因子的作用。

正如他们对果蝇的研究，基因芯片研究可能对保护生物学相关研究非常有用。然而，基因芯片只在部分生物中可用，尽管原理上可以为任何物种构造，但不现实，在特定研究中开发即可（如 Vera et al.，2008）。为模式物种开发的基因芯片可以在相关的受胁物种中尝试（如 Abzhanov et al.，2006）。

7.4.4 系统发育学

基因组资源与系统发育学的结合为系统地理格局和种内系统发育的研究提供了新的见解。相关研究解决公认的亚种是否已经独立成种、独立成种多久的问题。系统发育方法还可以更好地估计过去的有效群体大小（Edwards et al.，2007）。这些是了解局部适应的重要参数。在演化历史上多久和多少的遗传分化可以造成群体的显著分化？这些问题对于推断演化显著单元并由此确定管理单位是至关重要的。多位点谱系方法在系统地理学和历史群体大小中仍然少见，还是主要利用微卫星标记和叶绿体及线粒体 DNA 的方法。

基于多位点的溯祖理论研究表明，基因树和物种树是不一样的（Nichols 2001），估计一个物种的系统发育距离，需要许多基因的信息。例如，Liu 和 Pearl（2007）、Edwards 等（2007）的研究，设计了一系列的方法用于估计物种树和基因树的不同。在 BEST 方法中，估计物种树采用了一种贝叶斯方法，首先使用从受条件制约的初始物种树集中生成的树来估计基因树的向量（Liu and Pearl 2007）。他们既而使用基因树向量的后验概率产生进行贝叶斯或者最大似然估计的原始数据，并使用这些原始数据对如系统发育、群体分化时间和祖先群体的大小这些有关物种树空间的参数进行估算，在这个估算过程中，使用溯祖理论（coalescent theory）满足基因树的向量达到最大的似然估计值（Rannala and Yang 2003）。祖先群体大小也可以通过使用多位点基因树–物种树冲突数据集的方法估计（Nei 1987）。即使是未完全解决

的核基因树，当分析了多个位点时，也可以为群体大小历史的推断提供强有力的信号（Jennings and Edwards 2005；Edwards et al. 2007）。

相比于中性基因和物种树，对亚种树和分化时间的估计使研究基因受自然选择是如何表现的成为可能。在哺乳动物 *Mhc* 基因的案例中，已经观察到物种共有的等位基因可追溯到谱系分化之前（Edwards et al. 1995）。一般的解释是杂合基因型更适应，因此由于遗传漂变引起的等位基因消失数量急剧降低，从而导致等位基因在物种形成事件中长期保留。长期保留时间也可通过频率依赖模型和其他平衡选择的变量预测（Vekemans and Slatkin 1994）。与此相反，一些研究发现群体中的 MHC 等位基因比中性基因存在更多的分化，意味着有剧烈的分化选择，也许是对不同的栖息地或寄生动物区系物种之间的反应（Miller et al. 1997；Ekblom et al. 2007；Saether et al. 2007）。

7.5 非模式物种的基因组研究

尽管应用分子遗传学到生态上著名的非模式物种中存在困难，然而一些研究已经在这一领域取得卓越的进展。下面我来回顾一下这些研究。

Bonin 和他的同事（2006），用 AFLP 在法国筛选不同海拔梯度的林蛙（*Rana temporaria*）群体中的遗传变异。在一大组标记中，他们确定了四项比通过随机遗传漂变预期更显著分化（F_{ST} 较高）的分子标记（图 7.3）。然后，他们将自己的数据细分为包含所有符合中性期望值的中性数据集和包含离群值位点的海拔数据集。计算中性数据集中的系统发育关系时，地理上接近的群体如预期那样紧密聚集在一起。然而，计算海拔数据集中的系统发育关系时，群体根据海拔高度，而不是地理上的距离聚集。这有力地表明，海拔数据中包含 AFLP 位点的基因区域已经受到相似形式的自然选择影响，并且可能包含在高海拔地区生物相应选择的功能位点。不过，林蛙的遗传结构迄今还没有建立，也没有建议的候选功能位点。类似的研究也可利用 AFLP 发现受选择影响的玉黍螺（*Littorina saxatilis*）地理群体间的遗传分化并寻找分离的受到选择的位点（Wilding et al. 2001；Butlin 2008）。

有一系列的论文研究一种三刺鱼（*Gasterosteus aculeatus*）适应淡水底栖和海水游泳生活的群体形态及遗传的分化（Peichel et al. 2004; Albert and Schluter 2004; Colosimo et al. 2004；Shapiro et al. 2004）。通过一系列的定量及分子遗传技术和实验的混合，一个完整的连锁图谱已发表，连锁群的数目等于相应物种中的染色体数目。根据这一图谱，研究人员已经证明，淡水底栖和海水游泳三刺鱼的两个重要的形态差异——保护侧骨板和鳃耙数目，可以对应到独立的染色体区域，因而由不同的基因控制。此外，骨骼的三个方面的性状只对应到唯一的染色体区域，说明在形成这些差异时，只有少数主要基因发挥重要作用（图 7.4）。

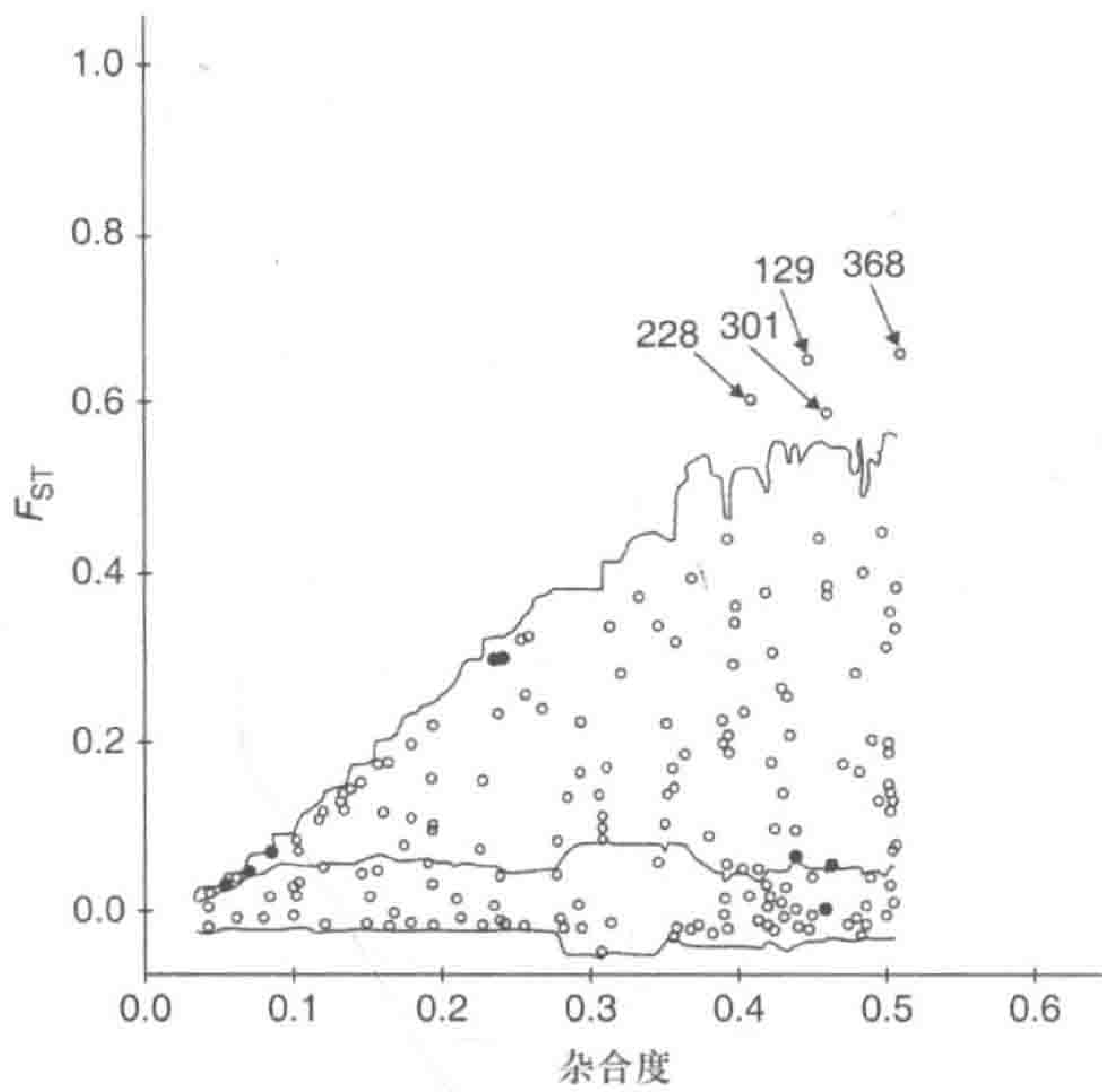
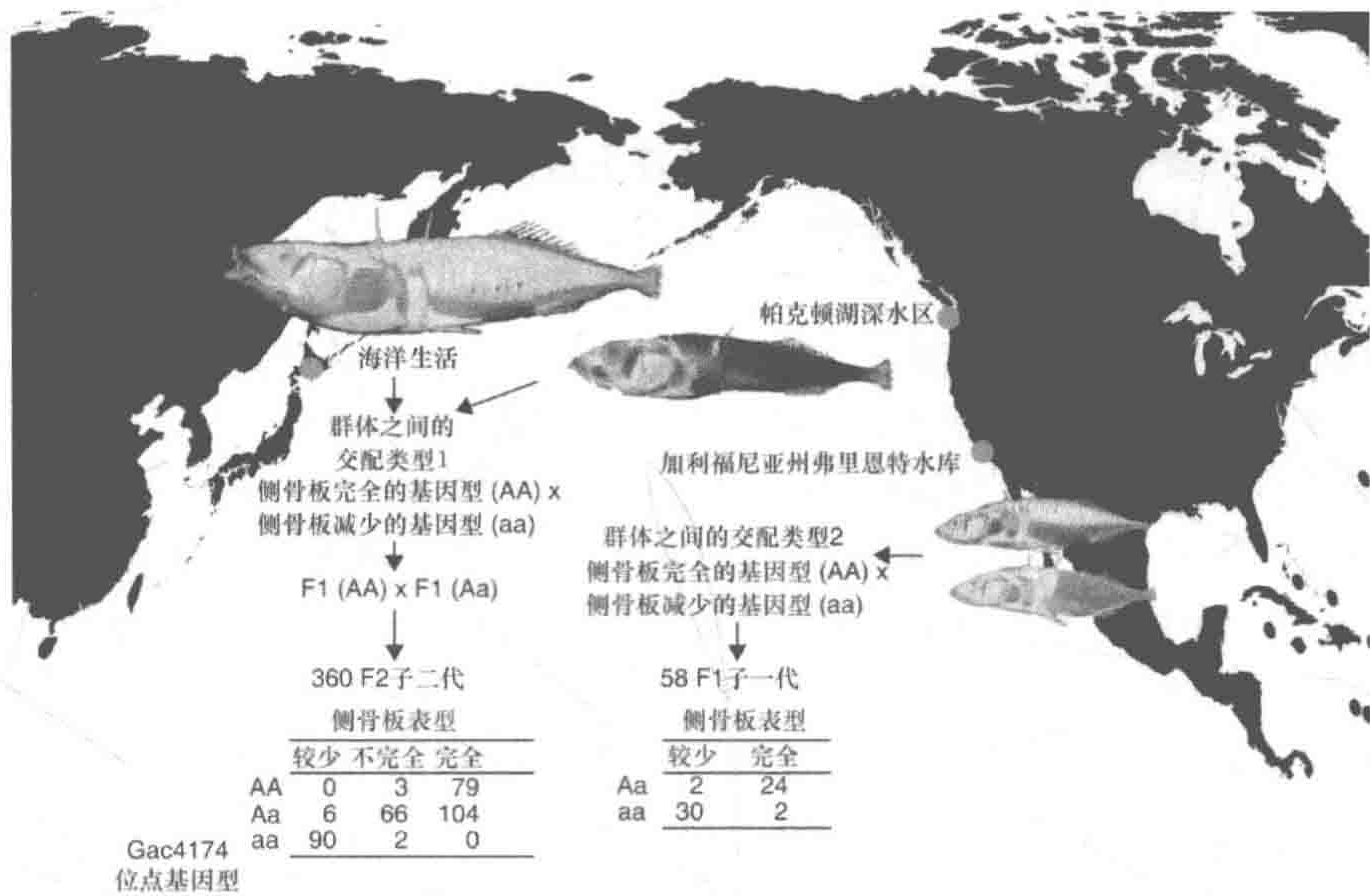


图 7.3 比较高纬度和低纬度群体的 F_{ST} 值相对杂合度估计的图示

每个点代表一个 AFLP 标记。最低、中间和最高的线分别代表 5%、50%和 95%的置信区间。离群值的基因位点由箭头标出并有数字指示（引自 Bonin et al.2006，在出版商允许下重新绘制）



	侧骨板表型		
	较少	不完全	完全
AA	0	3	79
Aa	6	66	104
aa	90	2	0

	侧骨板表型	
	较少	完全
Aa	2	24
aa	30	2

图 7.4 三刺鱼体侧骨板减少的遗传基础图示

灰点表示研究群体的地理来源。AA、Aa、aa 表示微卫星标记 Gac4174 的基因型，该标记位于主骨板位点的附近（引自 Colosimo et al. 2004，在出版商允许下重新绘制）

同样，形态差异被描述为一种适应的最佳几何模型，使得有重大影响的几个主要 QTL 和许多有较小多效性的基因一起参与到形态差异中。有重大影响的一个分子标记是 EDA 基因。人类中的 EDA 基因为制备外异蛋白 A（ectodysplasin A）提供了指令。这种蛋白质是在出生前对发育起重要作用的信号通路的一部分。具体来讲，它是外胚层和中胚层胚细胞层之间交互的关键。在胚胎早期，这些细胞层构成人体许多器官和组织的基础（参考 NIH 遗传学主页：http://ghr.nlm.nih.gov/）。

海水游泳和淡水底栖三刺鱼之间的另一个主要区别是淡水底栖棘鱼的侧骨板在减小。以前的研究曾表明，侧骨板是一种防御结构，增加三刺鱼的有效直径，抵抗捕食者进攻及咀嚼过程中的压缩力，保护三刺鱼抵御张口有限、嘴唇较软的捕食者。然而，一些淡水三刺鱼群体已经进化到侧骨板全部或部分损失的程度了，或许是对当地没有食肉鱼的响应（Shapiro et al. 2004）。研究表明，侧骨板的减少受控于一个主要的和四个次要的 QTL。主要基因是 *Pitxl*，它能在小鼠后肢发育过程中特异性地表达，要求它能在传统的脊椎动物模型系统中后肢正常发展。但是，棘鱼的 Pitxl 蛋白序列没有发生变化。相反，侧骨板减少的棘鱼在 *Pitxl* 表达中表现出特定位点的调节变化，在侧骨板和尾鳍前体中减少或不发生表达。因此，研究表明，主要控制发育的基因中的调节突变可能是一种在自然群体中产生快速骨骼变化的机制，同时保留其他过程中 *Pitxl* 的重要作用。

达尔文雀的适应辐射是教科书的例子之一，揭示了生态条件差异是如何影响对喙形的不同选择，从而促进一组共同起源鸟类进行适应辐射（Lack 1947；Grant 1986）。喙形的遗传机制已在家鸡中得到了研究（Wu et al. 2004），Abzhanov 及其同事（2004）在一组达尔文雀不同物种中研究了一个候选基因——骨骼形态发生蛋白（Bmp4）基因，以前它被鉴定为家鸡主要参与喙形态的基因。通过在不同物种中进行的表达模式比较分析，他们鉴定了 Bmp4 与鸟喙形态变化关联的表达水平和时间差异。在开发基因的过程中，发现在拥有大而宽喙的物种中，Bmp4 在上喙突出物间质中的远端背侧区域中强烈表达。研究人员推测，在 Bmp4 的顺式调控元件的差异背后可能发现不同的表达模式。这项研究之所以成为候选基因方法的一个典型例子，是因为在一个模式物种（本案例中为家鸡）中鉴定的基因，也可以参与到非模型物种的类似形态发育中（专栏 7.1）。

在另一项研究中，Abzhanov 和同事用不同的方法研究了同一组鸟喙形态差异的遗传学背景。通过对家鸡使用基因芯片，能够证明另一种蛋白质——钙调蛋白（CAM），在达尔文雀中有表达差异，而且不同的表达水平与喙的形态存在关联性（图 7.5，Abzhanov et al. 2006）。钙调蛋白是结合并激活某些能触发信号并最终开关特定基因的酶的蛋白质。这一结果再次表明，调节基因和基因产物在不同形态的演变中起主要作用。

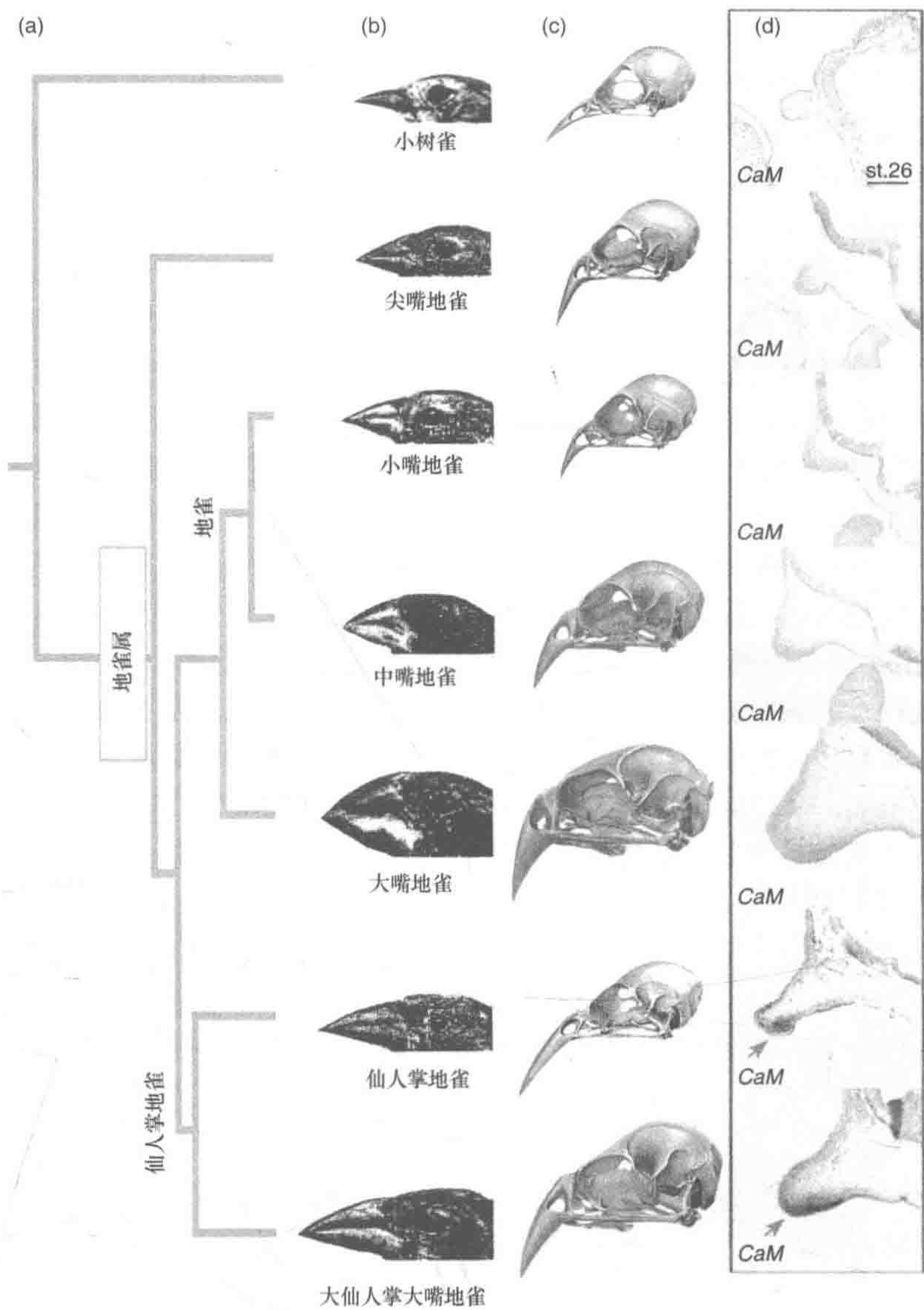


图 7.5　加拉帕戈斯群岛上地雀的系统发育关系（叠加了不同喙形）
CaM 基因在大型有喙物种的间质末梢侧部区域存在差异表达（Abzhanov et al.，2006，在出版商允许下重新绘制）

7.6　结　　论

本章综述了基因组学的发展，及其在保护遗传学上的应用。回到第 4 章关于入侵物种的讨论中，Lee（2002）认为：“用基因组方法阐明入侵机制是有效的，可以通过分析和入侵事件相关联的基因表达、基因相互作用和基因重组来实现。”

她强调探索入侵物种的基因组特征，如基因、基因复合体和上位性互作的意义，这些特征促进物种的入侵行为，并且这些信息可能会带来对遗传结构和演化速率、导致成功入侵的演化和生态因子的关系的新见解。因此，极有可能随着基因组学的进步，新的技术会开发出来。尽管保护和演化生物学家还在怀疑他们研究进展暂时落后于研究模式生物的学者们，但新的技术已经并将继续对保护和进化研究产生重要影响。不过还需要针对生命形式如何演化有更深入的了解，需要考虑研究方向的安排，来让子孙后代更好地保护生物多样性。

8 生命演化中的保护生物学

人类的活动已经对全球生物多样性留下毁灭性的影响，而这些影响依然持续。过去的400年间，有127种已知的鸟类消失，绝大部分都源于人类的行为（Newton 2003）。但是，这些物种的灭绝不仅仅是现代工业文化导致的结果。早在史前阶段，早期人类的群聚定居就已经导致了近千种地方特有鸟类的消失（Milberg and Tyrberg 1993）。而许多现存的鸟类物种也由于人类的活动濒临灭绝的处境。Brooks等（1996）预计，人类在菲律宾与印度尼西亚岛屿上的森林砍伐行为将引起将近100种地方特有鸟类在不远的将来灭绝。同时，每年有1600万公顷热带森林从地球上消失（Achard et al. 2002）。Sodhi等（2004）预测，在未来100年内，全球每8种鸟类中就有一个物种从地球上灭绝。而导致这种结果的原因，99%都与森林砍伐和猎杀动物等于人类活动直接相关（Butchart et al. 2004）。

然而，这些苍白的数字和预测并不只局限在鸟类，它们也适用于所有的物种。动植物个体和生境的消失速率每年可达1%（Balmford et al. 2003）。就英国地区而言，Thomas等（2004）发现蝴蝶、鸟类及维管植物的消失是相关联的。因此，上面所提到的鸟类的消失，毫无疑问也伴随着其他物种类群的消失。而Thompson和Jones（1999）发现，英国人口密度的增加与珍稀植物的消失之间存在一定的关系，意味着人类也在影响着植物物种的生存。

2007年2月，加州大学环境学院主办了一场主题为“人类影响环境下的物种演化改变”的会议。会议报告中强调“我们正在经历一个无计划的、全球性的、地球生物多样性相关的演化实验，这是（人类引起）影响的结果。越来越多的实际证据表明，人类引起的演化改变发生在世界的每一个角落。即使是在人类平均寿命长度的时间范围，需要承受巨大的经济成本并对人类与生物多样性引起严重的威胁，这种改变也在迅速地发生着”（Smith and Bernatchez 2008）。人类不仅对自然生境和物种生存造成毁灭性的影响，同时也在发生驯养的、易地野化的动物群体，以及放生外来物种中产生影响。所有的这些情况都可以以现在时态写进一份报告当中，这说明物种正因传统繁殖和转基因技术的共同作用而变化着。其中，对抗生素与杀虫剂有抗性的病原体和蛔虫的扩散，这个现代达尔文演化理论的实际例子，成为了对人类生活最大的威胁之一（Palumbi 2001）。不过有一个不争的事实是，人类已经并正在对生物演化进程造成影响。

8.1 人类对生物演化进程的影响

正如在第 6 章中我们提到的，生物演化曾经被视为一个缓慢的进程。然而，演化上的改变却能够在很短的时间内发生（例如，Reznick 1997；Hendry 2000，2006；Bradshaw and Holzapfel 2001；Quinn 2001）。此外，促使当今演化发生的首要因素，与造成目前生物多样性危机和灭绝过程的因素相同。这些被视为促使当今演化的因素包括：生境消失与破碎化、过度采摘及过度捕捞，以及外来入侵物种的出现（Stockwell et al.，2003）。用来计量演化变化速率的单位为霍尔丹（Haldane），以纪念现代演化生物学奠基人之一的 J. B. S. Haldane。Haldane 的定义为：每一世代表型变化的标准差。显然，这一个变化尺度与时间尺度相关：越多世代的计算可得到越大的变化值。因此，如果我们要判断某一种变化速度比预期的快还是慢，这一个关系中的其他因素都应该被计算在内（图 8.1）。我们可以清晰地了解到，演化速率是在一个可被观测与计算的时间尺度上发生的；同时，对于不同类群而言，相同数目的世代表现出演化速率的范围也会相差很大。

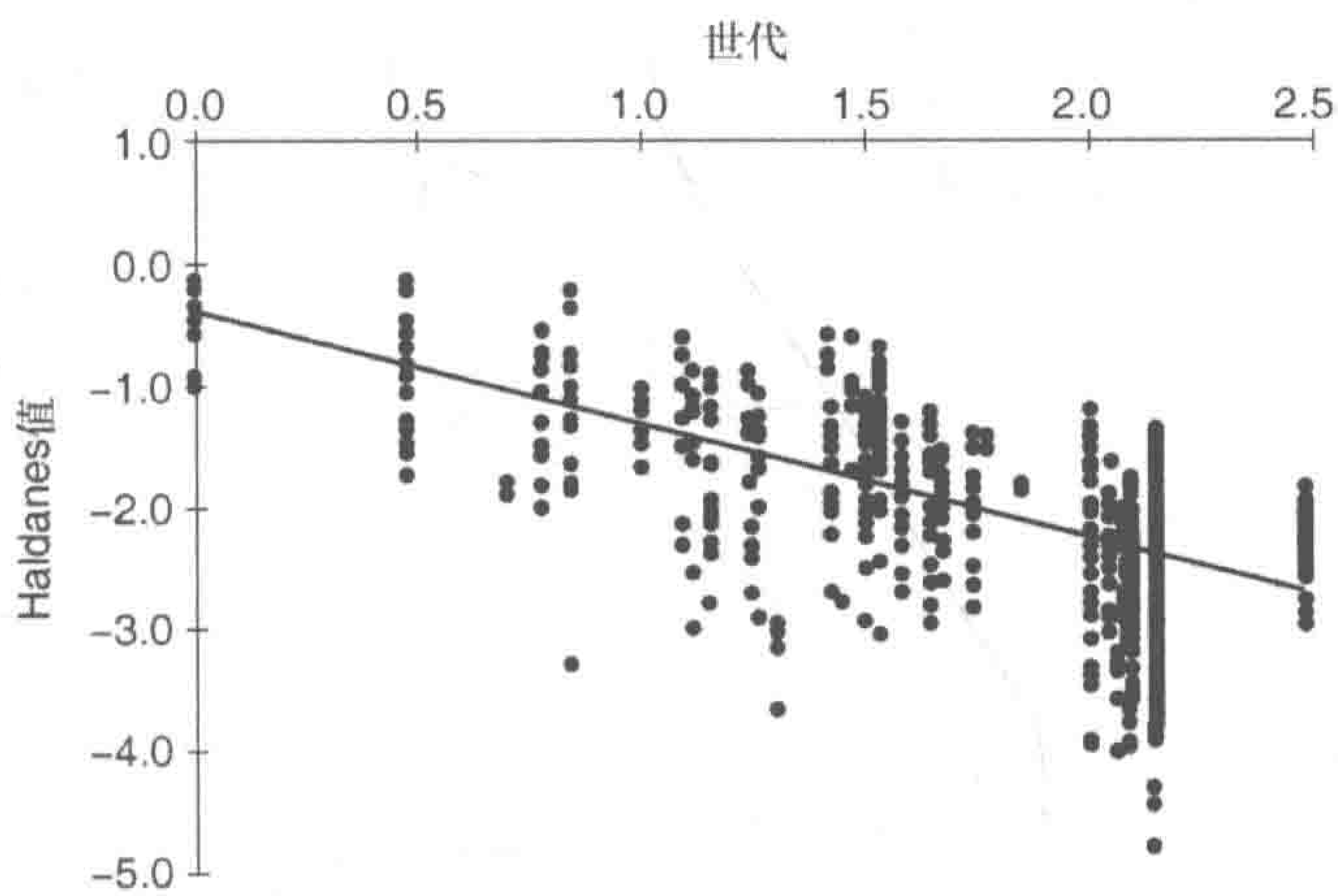


图 8.1 Haldanes 相关处理下不同物种世代的演化速率，样品数为 2104

趋势线表示特定时间阶段内预期的平均 Haldanes 值（引自 Kinnison and Hendry 2001；Stockwell et al. 2003，在出版商允许下重新绘制）

不是所有因环境干扰（无论是不是由人类引起）而发生在表型、行为及生活史上的改变，都与基因组微进化的改变有关。例如，许多海洋中的物种在波罗的海的淡海水中也有分布。即使淡海水中的盐度低于它们通常被发现的海区中海水盐度，它们依然能在这相当低盐度的环境中繁衍和生存（Johannesson and André 2006），我们却依然不清楚生活在波罗的海中的这些鱼类群体是否真的已经适应低

盐度的海水，抑或是群体表型可塑性的原因。

似乎微进化改变与表型可塑性都能够解释波罗的海咸水鱼类的出现。在比目鱼科的欧洲川鲽（*Platichthys flesus*）中，有两种不同的卵形（Florin and Höglund 2008）。一种产在水面，既小又轻，可在水面上漂浮；另一种产在海底，大而厚实。波罗的海海水中的盐浓度自松德海峡向东和向北递减，而产卵于海底的欧洲川鲽在波罗的海北部的淡海水中更为常见。这种现象的一个原因在于，水面产卵的欧洲川鲽，它的鱼卵不能在北部的低盐度海水水面漂浮，因而具有极高的死亡率。另一方面，产在水底的鱼卵由于厚实而更能承受海底的水压而存活。这种在产卵行为及卵形上的差异，很有可能是欧洲川鲽对环境盐浓度不同的微进化反应。

大菱鲆（*Psetta maxima*）是在纯海水和波罗的海中生活的又一种比目鱼类物种。对于在瑞典盐湖西海岸（高盐度）和波罗的海（低盐度）中捕捉到的鱼群，我们并没有发现明显的群体结构差异。这更能解释它们在低盐度海水中的生活与繁殖所表现出来的表型可塑性（Florin and Höglund 2007）。

Hendry 等（2008）发表的一篇对现有研究的综述中指出，人为导致的环境变化比自然因素导致的环境变化更能使观测到的群体发生显著的表型变化。这种差异可能是由于表型可塑性（phenotypic plasticity）而非基因水平的改变。在为最小化表型可塑性影响而专门设计的基因组量化研究中，人们发现无论是人为还是自然因素导致的环境改变，实验结果均没有明显的差别。但是，这种在基因型与表型可塑性的改变在野外捕获的物种中却明显存在。

水力发电站的建设影响了鲑科鱼类的繁殖水环境，人们为了抵消这种影响对鱼类的危害采用了多种方法，包括建设鱼梯通道，使洄游的鱼类能够顺利穿过大坝，同时也利用孵卵饲养以多种方法提高繁殖成效。有越来越多的证据显示，这种影响选择机制的方法将引起鱼群基因型的变化（Fleming et al. 2000；Hutchings and Fraser 2008；Waples et al. 2008）。

在瑞典，十余年来人们将大量的孵卵饲养的鳟鱼投放到达尔河中，以弥补因上游多个水力发电站建设而引起鳟鱼群体自然繁殖率的降低。而这种饲养最初使用的是从河里捕捉的野生鳟鱼。当我们拿野生鳟鱼和这种孵卵饲养的鳟鱼进行比较时，发现其表型与其预期基因改变不同（Petersson and Jävri 1993，1995；Petersson et al. 1996）。然而，利用微卫星和同工酶进行的精确基因研究显示，不同鱼类样品间并没有基因型的不同（Palm et al. 2003a）。可惜的是，这一个检测表型差异的实验并没有考虑表型可塑性和基因影响的鉴别。不过，不同样品在表型和行为上的差异，可能是因为我们观测到的表型差异仅是非基因影响的母本效应引起的行为，比如野生的与饲养的母本所产下的卵形差异（Jonsson et al. 1996）。

因此，不是所有观测到由人类引起的表型改变都是基因控制，而是表型可塑性的反应。然而，个体的表型可塑性依然受到一组基因的调控，因而可能对外部

的选择有所反应（Via and Lande 1985；Stearns and Koella 1986；Scheiner 1993）。人类引起的环境改变对物种的选择可能使表型可塑性的效应出现了演化，使那些预先适应了在压力和不稳定环境下生存的物种获得优势。另一方面，研究发现当鱼类被饲养时，表型可塑性将是物种可能丧失的性状之一。

8.2 捕获引起的演化响应

在捕获或被管理的群体里面，选择性捕获引起的演化层面上的改变发生得非常迅速，并且已经被多次记载。通过生活史理论的研究，人们发现群体死亡率的上升将使该群体向更小个体与更早性成熟的方向演化。在个体大小、成熟期、行为或表型上进行选择性捕捞的商业捕鱼已被认为是导致以上演化的一个原因（Jørgensen et al. 2007；表 8.1）。此外，对渔民而言，商业捕鱼所引起的改变并不是人们所期望的。商业捕鱼中的选择性捕捞导致容易捕捉的大型鱼类从鱼群中消失，而剩下更小、更难捕捉的鱼（Lande et al. 1997）。

表 8.1　鱼类因捕捞引起的演化改变情况，有部分样品（*n*）的变化程度进行了量化（数据来自 Jørgensen et al. 2007）

鱼类演化改变	物种个数	研究个体数	变化情况/%（*n*）
低龄成熟	6	10	23～24（1）
小体型成熟	7	13	20～33（3）
低 PMRN 中值	5	10	3～49（13）
年生长量下降	6	6	15～33（3）
繁殖力增加	3	4	5～100（3）
遗传多样性丧失	3	3	21～22（2）

注：PMRN，概率决定的成熟反应规范（probabilistic maturation reaction norm）。

相似的，在狩猎群体中的一个现象逐渐引起人们的关注。用于制作狩猎头像标本的捕猎会专门选择那些特定表型的个体，如长有巨大的头角或多叉的鹿角等，意味着目标群体里面将拥有越来越少的符合要求的动物个体（Coltman et al. 2003）。

我们对这些演化结果并不感到出乎意料。在演化生物学的理论出现的时候，捕食者即被认为对猎物的适应性演化起到重要的作用（Reznick and Travis 1996；Swaddle and Lockwood 1998；Reznick et al. 2001）。人类就像其他顶极捕食者一样，在猎物群体上施加选择压力，使得群体无论在过去还是未来一直发生着改变。

Latta（2008）指出的由人类引起选择压力所导致的一种自然结果是，一方面，人类正在筛选保留他们所不需要的群体性状，比如保留更小与更难捕捉的鱼和猎

物、抗药性害虫和病原体、快生的杂草等；而另一方面，人类的所做所为却反而让我们自己更难去改变那些真正需要改变的群体。正如在第 1 章中所提到的，选择性筛选在小群体或濒危群体中具有更小的演化效力，因此这些小群体的适应性潜质有限，无论我们采用了多少保护措施依然无法引起它们的演化（Willi et al. 2006）。因此也有人提出，保护生物学的核心关注点应该放在保护自然群体的演化潜能上。

8.3 保护演化潜能

保护和演化在某种程度上是相互矛盾的两个词语。演化意味着改变，而保护意味着稳定。然而，在我们这本书中，保护应该被理解为提供适合的条件与环境以满足群体未来发生改变的可能。长久以来，可行的保护决策被认为应基于在演化上对物种进行保护。Erwin（1991）指出，在群体表型演化过程中，辐射演化产生最多的那部分性状应该被优先保存下来。那些在地方特有而稀有的群体中发现的表型性状，受限于这种明显不会发生明显演化的生命形态，它们必然会走向消失。相反，辐射演化产生的表型性状却代表着一种演化的潜能。这种想法与现行大多数保护策略相悖，因为现行的保护策略均以稀有种作为优先保护的对象。其他许多学者也提出了应保护演化进程而非具体性状的思想（如 Smith et al. 1993；Thompson 1996；Stockwell et al. 2003）。

对于应给予同一物种的哪类群体优先保护方面，也有一个占据主导地位的相似的思想。究竟是该把主要的保护力度放在群体数量大且繁殖速度快的那些具有很好前景的群体，还是该放在那些群体数量小的边缘群体？Lesica 和 Allendorf（1995）提出，边缘群体的保护价值取决于其相较于其他同一物种群体的分化程度（图 8.2）。如果边缘群体与中心群体相比有明显的遗传和表型分化，意味着该群体对整个物种的遗传多样性有显著的贡献，因此应该被长期地保护下来。他们也进一步指出，边缘群体是未来新物种形成的潜在而重要的发生点。

在美国加利福尼亚州，加州白栎（*Quercus lobata*）的群体中有部分个体处在比其他个体更大威胁的环境中。当这些群体里面拥有某些具有显著不同的历史和基因组成的个体时，这些群体就应该被优先考虑保护起来，以保护那些可能丢失的关于此物种有价值的演化信息（Grivet et al. 2008）。在欧亚大陆占据主导地位的黑尾塍鹬指名亚种（*Limosa limosa limosa*）中，独特而稀有的线粒体基因单倍型在波罗的海的厄兰岛和哥特兰岛上生活的边缘群体中被发现（Höglund et al. 2008）。这些岛屿上生活着黑尾塍鹬指名亚种的许多小型边缘群体，这些群体中线粒体基因组多样性远远高于在荷兰大陆生活的其他大型群体。显然，一旦生活在波罗的海岛屿上的群体消失，这些独特的线粒体单倍型也必然随之消失。不幸的

是，这些群体的个体数曲线在过去的几年一直呈现负增长，而在我们写下这段文字的时候，这些波罗的海群体已经到了濒临灭绝的地步。

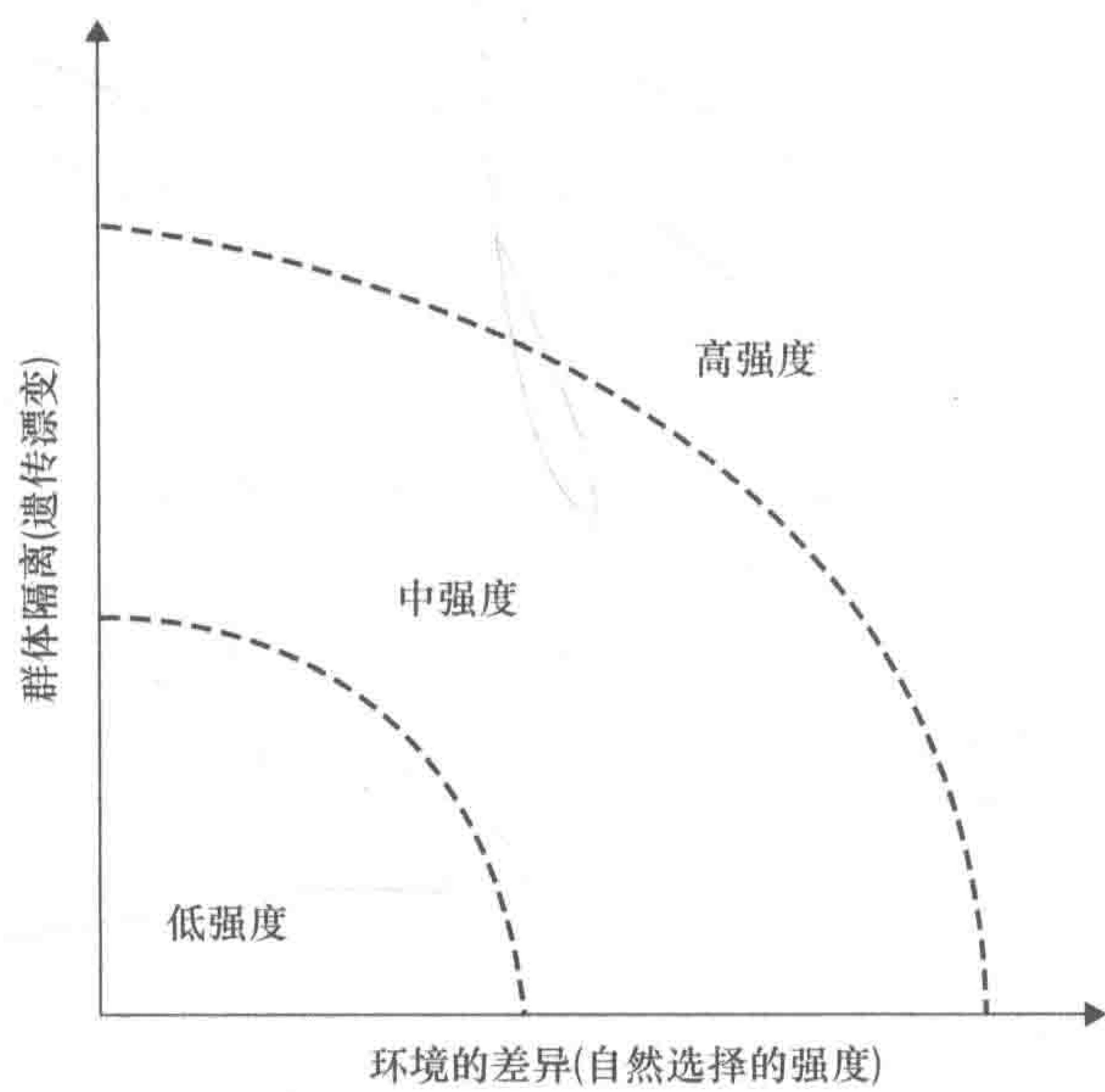


图 8.2 演化角度上边缘群体相对保护价值示意图（引自 Lesica and Allendorf 1995，在出版商允许下重新绘制）

怎么做才能最好地将我们对演化进程的认识和遗传多样性分布整合起来制定保护方案？Moritz（2002）提出将遗传多样性分成两个维度，一个考虑适应性变异，另一个考虑隔离引起的中性分化。由于长期隔离形成的谱系物种所含有的遗传信息在其消失之后不可恢复，对物种和所在地区的保护应该强调保护长期隔离形成的在演化谱系上独特的物种群体，或者称为演化显著单元（evolutionarily significant unit，ESU）。相反，通过维持现有的选择强度、异质性生境、有生命力的群体数量等因素，或许是保护群体中适应性性状的最佳方案，而不是需要通过保护特定的表型性状来实现。Moritz 提议：①辨别并确认对代表种和相关种（指因地理隔离产生与地域相关）的遗传多样性至关重要的区域；②在这些区域内，最大限度地提高对环境连续梯度的保护，使环境选择与群体迁移能够相互作用，以维持群体生命力与（适应性）遗传多样性。

8.4 保 护 单 元

对确定优先保护群体的需要促生了 ESU（Ryder 1986）和管理单元（management unit，MU；Moritz 1994）的概念。关于这两点在这本书的前半部分

也曾经提过。如何去定义这样的优先保护群体单元，人们还没有找到最适合的方法（Crandall et al. 2000）。而关于这两个概念的讨论曾经占据了此领域研究文献上的主要部分（见 Fraser and Bernatchez 2001 的综述）。

学界提出了许多对于 ESU 的定义，每一个强调的关键因素都不同（表 8.2）。ESU 最早提出是为了解决最初使用亚种的定义作为保护工作指引所产生的模糊性等一些问题。最初的定义强调了 ESU 应作为一类经历足够长的一段时间而隔离于其他同种个体的、具有与其他同群体明显遗传分化的群体（Ryder 1986）。实际上，ESU 已经被界定为一个相互关联而具有同一线粒体 DNA 起源谱系的个体集合。因此，如需鉴定一个群体是否为一个 ESU，则应鉴定群体内的所有谱系结构都由最近的相同祖先起源，且群体与该祖先的距离应比其他群体个体距离该祖先的距离都要近（Moritz 1994）。

表 8.2　演化显著单元（ESU）标准（Dyland and Bernatchez 2001 提出）

研究	定义
Ryder 1986	在一个完整物种下面的独特的群体，这些群体拥有一些对该物种当今和未来世代很重要的遗传突变
Waples 1991	一个或者一组群体，具有如下的特质 （i）与物种中的其他群体具有显著的生殖隔离 （ii）代表了该物种中进化遗产中显著的一部分
Dizon et al. 1992	一个群体或者一组群体有显著的等位基因的差异
Avise 1994	一个群体或者一组群体有显著的基因谱系上的差异
Moritz 1994	群体具有如下的特质： （i）在线粒体基因谱系上已经形成了单系群 （ii）在核基因上有显著的等位基因频率差异
Vogler and DeSalle 1994	一组个体或者多组个体由于独特的性状而被聚类在一起，这样的组与其他这样的个体能够相互区分
Crandall et al. 2000	根据一个物种的全局概念，放弃 ESU 的概念。而考虑一个物种下面有很多群体，这些群体之间具有不同强度的基因流，并受到自然选择和遗传漂变的影响而演化
Fraser and Bernatchez 2001	物种下有非常明晰的组织结构，这个结构由相互之间有非常局限的基因流的进化群体组成

许多保护项目也通过等位酶与微卫星技术获取等位基因频率的数据。这些数据并不容易转换为适用于 ESU 的概念，但却可用于确认 MU。MU 可作为 ESU 的一个类别进行使用。如需一个群体符合一个 MU 的概念，则该群体应表现出显著的等位基因分布（Moritz 1994）。在生态范畴里，一个 MU 被定义为一个仅由出生率与死亡率决定群体动态的群体，群体中的迁入与迁出不是决定其群体个体数目动态的因素（Moritz 1995）。

ESU 适用于与群体连续性分布相关的问题。但是，关于 ESU 应用的质疑主要

在于，当采用了ESU的概念时，人们多是基于中性性状来界定某一个物种或群体为一个ESU。学界呼吁应考虑非中性性状及其他更多的遗传标记（Pertoldi et al. 2007）。

这种观点可以借助一个关于北美洲的卡纳蓝灰蝶的*samuelis*亚种（*Lycaeides melissa samuelis*）的研究来说明（Gompert et al. 2006）。该亚种与其指名亚种（*Lycaeides melissa melissa*）有明显的表型区别。一项研究显示，出现在西部的*samueli*亚种和东部的*melissa*亚种的线粒体DNA有共享的单倍型，可能是源于*melissa*亚种的线粒体基因渗入。因此，西部*samueli*亚种和东部*melissa*亚种在线粒体DNA水平上并不能很好地区分，换句话说，就是*samuelis*亚种在遗传上的独特性未能呈现出来。但这两个亚种在核基因DNA水平上却存在显著性的区别，这个案例也说明了利用单一位点的基因数据来判定ESU时存在的不确定性。

ESU的概念在实施群体管理和立法等方面也已发挥重要作用。Fallon（2007）在他的一篇综述中表示，他发现一个分类学单元一旦被基于其遗传数据而认定为ESU，该物种单元将有更高的可能性被列入《美国濒危动物保护法》。此外，在划分ESU时所使用的遗传标记的种类和数量密切影响划分ESU的解析能力（使用更多和更敏锐的遗传标记获得的数据可能意味着更好的划分能力）。文章的作者呼吁出台相应的指引，以明确基因信息如何被应用于基于群体管理和濒危动物法的评估体系中，同时呼吁应该采用多基因标记以获得更准确信息。

Fraser和Bernatchez（2001）尝试调和许多关于ESU的观点并提出"适应性演化保护（adaptive evolutionary conservation）"的方法。在这一个方法框架下，许多不同的评价体系都可以因相应不同情况而被独立或混合使用，以确定物种或分类学单元的受保护状态。他们指出，要提出一个关于ESU的严格而普适于所有物种的定义几乎是不可能的，但他们总结了对物种保护的主要目标应在于保护物种的演化进程及群体的生存潜力上。为了达到这个目的，物种内应保留尽可能多的个体，从而确保群体内演化进程不会受到影响。据我所知，学界还没有对这种方法加以应用，尽管更多的标记与非中性表型被考虑在内，目前仅有ESU的概念依然在被广泛采用。

对于定义ESU的争论也在某种程度上反映了不同时期流行的分子标记。20世纪90年代初，线粒体DNA和系统发育树重建占据了学科的主要地位。随着微卫星技术在90年代中期的出现，学界出现了使用等位基因频率差异的呼声，因而促成了MU的诞生。如今，由于选择性基因标记的使用趋于常态化，学界也出现了要求考虑非中性突变的呼声。意想不到的是，关于非中性和中性突变的争论成为了当今关于ESU争论出现的主要促使因素。而在ESU争论的同时也伴随着关于群体概念的无休止的争论（Fraser and Bernatchez 2001）。对系统发生学和相关群体概念的支持者倾向于接受ESU基于历史发生和系统发育的标准，而对生物演

化和相关群体概念的支持者则呼吁对频率差异和适应性标记物的使用。

如今，随着在全基因组水平上数据比对技术的出现，人们清楚地看到基因组水平变异的复杂性。一部分基因组区域可能表现出极高的保守性（如编码基因），而其他区域却表现出较高程度的变异。对不同物种演化关系的系统发育树重建之所以有效，是因为基因漂变引起的谱系分选（lineage sorting）促使了物种单倍型的出现。然而，正如在关于 ESU 的问题中显而易见的是，不完全的谱系分选（incomplete lineage sorting）中可能存在亲缘物种之间有相同的 DNA 序列的现象。例如，在北美洲草原榛鸡属 *Tympanuchus* 的研究中，三个亲缘物种共有相同的线粒体单倍型（Lucchini et al. 2001）。即使保育学者对系统上分化很久的物种进行研究时，它们物种基因库相对彼此也并不是封闭的。基因可以通过病毒或者其他载体实现其水平转移，因此，基因树与物种分类树并不相同（Pamilo and Nei 1988; Nichols 2001）。为此，要重建系统发育树并希望借此引导保护决策，我们需要考虑从许多基因位点中提取的信息。

8.5 结　　论

演化保护生物学应该是怎样的一门学科？这门学科的基础框架究竟是什么呢？Pertoldi、Biljsma 和 Loeschcke（2007）共同发表的综述列出了影响这门学科未来发展的五大问题，我赞同其中的四点。这四个问题列出如下：

（1）对保护遗传学学科的整合不充分。保护遗传学学作为一门综合和应用学科，它借鉴了了许多相关学科的理论、技术，以及分析工具和方法。尽管这一领域内书籍与期刊的出版为学科带来了迅猛的进展，但是这一领域内的研究学者依然需要有相关学科的知识和科研背景。物种演化是生物学中具有纲领性质的理论，演化研究和演化思想理应在生物的保护研究和实践中发挥更大的影响力。要解决这个问题，人们应该减少在新技术和标记方法的关注，转而注重提出和解决相关的科学问题。

（2）通过中性标记推断选择。正如我们在这本书或者其他地方（Hedrick 2001; Gilligan et al. 2005）所讨论的那样，生物的遗传多样性（如杂合性）和数量遗传变异（如遗传力）之间有很小的相互关系，而且这种关系对群体个体数增加或减少的影响更加微弱。近期的很多研究都关注于寻找数量遗传变异的分子基础，但即使我们乐观地认为一些新的基因技术手段可以帮助我们解决这些问题，理论上的缺乏依然会使我们得到的结果存在局限性。Fisher 提出的关于自然选择的基础理论（见第 2 章）说明了适应性相关的性状具有短暂的且通常很低的遗传力，只有足够幸运才能在自然群体中检测到适应性相关的数量性状的核苷酸序列。

（3）通过中性标记物推测群体大小的变化。正如我们在第 4 章阐述的，人们正在寻求通过基因组数据来推测群体数目的变化。然而，不同的群体结构可能产

生不同的遗传印记。显然，当今我们需要对大群体生态学理论和群体基因组学的进一步整合。同时，遗传学家、分类学家及生态学家对群体有着略微不同的理解（Waples and Gaggiotti 2006）。基因组学更倾向于强调哈迪–温伯格定律和连锁平衡下的研究单元，而生态学家可能将群体定义为受密度制约的死亡率和繁殖率影响的独立实体。

（4）环境变化增大引起的遗传结果［关于此问题的回答整合了 Pertoldi et al.（2007）提出的第五个问题，即生态相关性的缺失］。正如我们在第 4 章已经讨论过的，气候变化已经成为当今我们面临的主要挑战之一。未来的气候不仅会变得越来越暖，人们预测它将变得越来越不稳定。目前而言，我们所具有的知识并不足以了解气候变暖将对遗传力造成怎样的影响，也不清楚群体对随机变化的环境将表现出怎样的演化反应。人们对遗传多样性保护的原则是尽可能多地保留出现的变异，这能够用下面的比喻来说明：工具箱中不同的工具越多，我们就能解决越多的问题。但是，这个工具箱的大小是否存在一个上限？换句话说，我们的遗传多样性保护计划是否应该一直以保护和保存尽可能多的遗传变异为终极目标？因为一些理论研究认为，在选择条件下，遗传变异实际上会使物种的适应性降低（Lande and Shannon 1996）。

生态学和遗传学，以及它们的交叉学科——分子生态学（molecular ecology），在基因组学的时代看起来似乎是过时的学科了。但是，它们组成的学科是对演化的相关科学问题进行完整诠释，将继续相互促进各自的学科内容的发展。在研究疾病变化的领域里，生态学、基因组学和演化研究组成了一个共同体。对于整合了对疾病、遗传变异和人口统计学研究的免疫遗传学，关于其更复杂变化的研究则成为未来研究中最受欢迎的内容。人们清楚地了解到，病原体的流行与再流行越来越成为对人类和野生动物健康的显著威胁（Acevedo-Whitehouse and Cunningham 2006）。传染性疾病可能成为小型与濒危群体最终消亡的终极原因。当一个群体没有抵御某种传染性疾病的相关机制时，这种传染病即可对这一群体产生巨大的影响，特别是对于我们人类而言。因此对生态学、疾病演化和疾病抗性的完整而深入的研究不仅是学术需要，更是保护实施中的重要因素。

保护遗传学可以被视为一种影响群体演化进程并提高群体持续性的尝试（Latta 2008）。要达到这个目的，我们显然需要首先对受胁迫物种的遗传变异有一定的了解，历史上许多在这一学科研究的目的都是为了尝试解读并描述这一种变异。瑞典国家环境保护总局在近期出资并发布了一项关于瑞典所有野生动植物研究情况的调查（Andersson et al. 2007）。调查报告中附有关于政府未来将在实际保护行动中如何收集、储存和使用这类数据的明确而详细的计划。而对于此项服务在国际上如何建立并运行的指引也被学界所提出（Schwartz et al. 2006）。落实保护决策建议和提出与全球濒危物种演化命运相关问题的时代已经来临。

参考文献

Abdelkrim, J., Pascal, M. *et al.* (2005) Island colonization and founder effects: the invasion of the Guadeloupe islands by ship rats (*Rattus rattus*). *Molecular Ecology* **14:** 2923–2931.

Abzhanov, A., Protas, M. *et al.* (2004) Bmp4 and morphological variation of beaks in Darwin's finches. *Science* **305:** 1462–1465.

Abzhanov, A., Kuo, W. *et al.* (2006) The calmodulin pathway and evolution of elongated beak morphology in Darwin's finches. *Nature* **442:** 563–567.

Acevedo-Whitehouse, K. and Cunningham, A.A. (2006) Is MHC enough for understanding wildlife immunogenetics? *Trends in Ecology and Evolution* **21:** 433–438.

Achard, F., Eva, H. *et al.* (2002) Determination of deforestation rates of the world's humid tropical forests. *Science* **297:** 999–1002.

Adams, M.D., Kelley, J.M. *et al.* (1991) Complementary DNA sequencing: expressed sequence tags and human genome project. *Science* **252:** 1651–1656.

Aguilar, A., Roemer, G. *et al.* (2004) High MHC diversity maintained by balancing selection in an otherwise genetically monomorphic mammal. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101:** 3490–3494.

Albert, A.Y.K. and Schluter, D. (2004) Reproductive character displacement of male stickleback mate preference: reinforcement or direct selection? *Evolution* **58:** 1099–1107.

Allendorf, F.W. and Ryman, N. (2002) The role of genetics in population viability analysis. In *Population Viability Analysis*, S.R. Beissinger and D.R. McCullough (eds), pp. 50–85. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Al-Rababah, M. and Williams, C. (2004) An ancient bottleneck in the Lost Pines of centralTexas. *Molecular Ecology* **13:** 1075–1084.

Andersson, A., Andersson, S. *et al.* (2007) *Genetisk variation hos vilda växter och djur i Sverige*. Bromma: Naturvårdsverket.

Andersson, A.-C. (2004) *Postglacial Population History of the Common Shrew* (*Sorex araneus) in Fennoscandia*. Uppsala: Uppsala University.

Andersson, L. and Georges, M. (2004) Domestic animal genomics: deciphering the genetics of complex traits. *Nature Reviews Genetics* **5:** 202–212.

Apanius, V., Penn, D. *et al.* (1997) The nature of selection on the major histocompatibility complex. *Critical Reviews in Immunology* **17:** 179–224.

Arkush, K., Giese, A. *et al.* (2002) Resistance to three pathogens in the endangered winter-run chinook salomon (*Oncorhynchus tshawytscha*)**:** effects of inbreeding and major histocompatiblity complex genotypes. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* **59:** 966–975.

Armbruster, P. and Reed, D.H. (2005) Inbreeding depression in benign and stressful environments. *Heredity* **95:** 235–242.

Avise JC. 1994. *Molecular Markers, Natural History and Evolution*. Chapman & Hall, New York.

Babik, W., Durka, W. *et al.* (2005) Sequence diversity of the MHC DRB gene in the Eurasian beaver (*Castor fiber*). *Molecular Ecology* **14:** 4249–4257.

Babik, W., Pabijan, M. *et al.* (2008) Contrasting patterns of variation in MHC loci in the Alpine newt.

Molecular Ecology **17:** 2339–2355.

Backström, N., Brandström, M. *et al.* (2006) Genetic mapping in a natural population of collared flycatchers (*Ficedula albicollis*): conserved synteny but gene order rearrangements on the avian Z chromosome. *Genetics* **174:** 377–386.

Bainbridge, M., Warren, R. *et al.* (2006) Analysis of the prostate cancer cell line LNCaP transcriptome using a sequencing-by-synthesis approach. *BMC Genomics* **7:** 246.

Balasubramanian, S., Sureshkumar, S. *et al.* (2006) The PHYTOCHROME C photoreceptor gene mediates natural variation in flowering and growth responses of *Arabidopsis thaliana*. *Nature Genetics* **38:** 711–715.

Balloux, F., Amos, W. *et al.* (2004) Does heterozygosity estimate inbreeding in real populations. *Molecular Ecology* **13:** 3021–3031.

Balmford, A., Green, R.E. *et al.* (2003) Measuring the changing state of nature. *Trends in Ecology and Evolution* **18:** 326–330.

Banta, J.A., Dole, J. *et al.* (2007) Evidence of local adaptation to coarse-grained environmental variation in *Arabidopsis thaliana*. *Evolution* **61:** 2419–2432.

Bateson, P. (1993) Optimal outbreeding. In *Mate Choice*, P. Bateson (ed.), pp. 257–277. Cambridge, Cambridge University Press.

Beacham, T., Candy, J. *et al.* (2001) Evaluation and application of microsatellite and major histocompatibility complex variation for stock identification of coho salmon in British Columbia. *Transactions of the American Fisheries Society* **130:** 1116–1155.

Beaumont, L. and Balding, D. (2004) Identifying adaptive genetic divergence among populations from genome scans. *Molecular Ecology* **13:** 969–980.

Beck, S. and Trowsdale, J. (1999) Sequence organisation of the class II region of the human MHC. *Immunological Reviews* **167:** 201–210.

Beebee, T. and Rowe, G. (2001) Application of genetic bottleneck testing to the investigation of amphibian declines: a case study with natterjack toads. *Conservation Biology* **15:** 266–270.

Belkhir, K., Borsa, P. *et al.* (1996–2001) *GENETIX 4.02, Logiciel Sous Windows TM Pour la Génétique Des Populations*. Montpellier: Laboratoire Génome, Populations, Interactions, Université de Montpellier II.

Bellinger, M.R., Johnson, J.A. *et al.* (2003) Loss of genetic diversity in Wisconsin greater prairie chickens following a population bottleneck in Wisconsin, USA. *Conservation Biology* **17:** 717–724.

Bell-Pedersen, D., Cassone, V.M. *et al.* (2005) Circadian rhythms from multiple oscillators: lessons from diverse organisms. *Nature Review Genetics* **6:** 544–556.

Bensch, S., Åkesson, S. *et al.* (2002) The use of AFLP to find an informative SNP: genetic differences across a migratory divide in willow warblers. *Molecular Ecology* **11:** 2359–2366.

Berger, L., Speare, R. *et al.* (1998) Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **95:** 9031–9036.

Bernatchez, L. and Landry, C. (2003) MHC studies in non-model vertebrates: what have we learned about natural selection in 15 years? *Journal of Evolutionary Biology* **16:** 363–377.

Bernier, G. and Périlleux, C. (2005) A physiological overview of the genetics of flowering time control. *Plant Biotechnology Journal* **3:** 3–16.

Bierne, N. and Eyre-Walker, A. (2003) The problem of counting sites in the estimation of the synonymous and nonsynonymous substitution rates: implications for the correlation between the synonymous substitution rate and codon usage bias. *Genetics* **165:** 1587–1597.

Bijlsma, R., Bundgaard, J. *et al.* (1999) Environmental dependence of inbreeding depression and purging in *Drosophila melanogaster*. *Journal of Evolutionary Biology* **12:** 1125–1137.

Bijlsma, R., Bundgaard, J. *et al.* (2000) Does inbreeding affect the extinction risk of small populations?: predictions from *Drosophila*. *Journal of Evolutionary Biology* **13:** 502–514.

BirdLife International (2004) Birds in Europe: population estimates, trends and conservation status. *BirdLife Conservation Series*. Barcelona: BirdLife International.

Bleeker, W. and Hurka, H. (2001) Introgressive hybridization in *Rorippa* (Brassicaceae): gene flow and its consequences in natural and anthropogenic habitats. *Molecular Ecology* **10:** 2013–2022.

Blondel, J., Dias, P.C. *et al.* (1993) Habitat heterogeneity and life-history variation of Mediterranean blue tits (*Parus caeruleus*). *The Auk* **110:** 511–520.

Boake, C.B. (2002) Sexual signaling and speciation, a microevolutionary perspective. *Genetica* **116:** 205–214.

Boerrigter, E.J.M. (1995) *On the Perspectives of Populations of the Rare Plant Species Phyteuma nigra*. PhD thesis, State University of Groningen, Groningen.

Bollmer, J., Vargas, F. *et al.* (2007) Low MHC variation in the endangered Galápagos penguin (*Spheniscus mendiculus*). *Immunogenetics* **59:** 593–602.

Bonin, A., Taberlet, P. *et al.* (2006) Explorative genome scan to detect candidate loci for adaptation along a gradient of altitude in the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Biology and Evolution* **23:** 773–783.

Bonneaud, C., Sorci, G. *et al.* (2004) Diversity of Mhc class I and IIB genes in house sparrows (*Passer domesticus*). *Immunogenetics* **55:** 855–865.

Bonneaud, C., Pérez-Tris, J. *et al.* (2006) Major histocompatibility alleles associated with local resistance to malaria in a passerine. *Evolution* **60:** 383–9.

Bonnell, M.L. and Selander, R.K. (1974) Elephant seals: genetic variation and near extinction. *Science* **184:** 908–909.

Bos, D. and DeWoody, J. (2005) Molecular characterization of major histocompatibility complex class II alleles in wild tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*). *Immunogenetics* **57:** 775–781.

Bouck, A. and Vision, T. (2007) The molecular ecologist's guide to expressed sequence tags. *Molecular Ecology* **16:** 907–924.

Bouzat, J.L., Cheng, H.H. *et al.* (1998a) Genetic evaluation of a demographic bottleneck in the greater prairie chicken. *Conservation Biology* **12:** 836–843.

Bouzat, J.L., Lewin, H.A. *et al.* (1998b) The ghost of genetic diversity past: historical DNA analysis of the greater prairie chicken. *American Naturalist* **152:** 1–6.

Bradshaw, W.W. and Holzapfel, C.M. (2001) Genetic shift in photoperiodic response correlated with global warming. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **98:** 14509–14511.

Brooks, T., Pimm, S. *et al.* (1996) Deforestation predicts the number of threatened bird species in insular south east Asia. *Conservation Biology* **11:** 382–394.

Brown, J.H. and Kodrick-Brown, A. (1977) Turnover rates in insular biogeography: effect of immigration on extinction. *Ecology* **58:** 445–449.

Brown, J.L. and Eklund, A. (1994) Kin recognition and the major histocompatibility complex: an integrative review. *American Naturalist* **143:** 435–461.

Bryant, E.H., Meffert, L.M. *et al.* (1990) Fitness rebound in serially bottlenecked populations of the house fly. *American Naturalist* **114:** 1191–1211.

Bryant, E.H., Backus, V.L. *et al.* (1999) Experimental tests of captive breeding for endangered species. *Conservation Biology* **13:** 1487–1496.

Buckland, P. (2004) Allele-specific gene expression differences in humans. *Human Molecular Genetics*

13: R255–R260.

Busch, J., Waser, P. *et al.* (2007) Recent demographic bottlenecks are not accompanied by a genetic signature in banner-tailed kangaroo rats (*Dipodomys spectabilis*). *Molecular Ecology* **16:** 2450–2462.

Butchart, S.H.M., Stattersfield, A.J. *et al.* (2004) Measuring global trends in the status of biodiversity: red list indices for birds. *PLoS Biology* **2:** e383.

Butlin, R.K. (2008) Population genomics and speciation. *Genetica* (in press).

Cain, A.J. and Sheppard, P.M. (1950) Selection in the polymorphic land snail *Cepaea nemoralis*. *Heredity* **4:** 275–294.

Cain, A.J. and Sheppard, P.M. (1954) The theory of adaptive polymorphism. *American Naturalist* **88:** 321–326.

Caizergues, A., Rätti, O. *et al.* (2003) Population genetic structure of male black grouse (*Tetrao tetrix*) in fragmented vs. continuous landscapes. *Molecular Ecology* **12:** 2297–2305.

Campos, J., Posada, D. *et al.* (2006) Genetic variation at MHC, mitochondrial and microsatellite loci in isolated populations of Brown trout (*Salmo trutta*). *Conservation Genetics* **7:** 515–530.

Carlsson, J. and Nilsson, J. (2001) Effects of geomorphological structures on genetic differentiation among brown trout populations in a northern boreal river drainage. *Transactions of the American Fisheries Society* **130:** 36–45.

Caro, T.M. and Laurenson, M.K. (1994) Ecological and genetic factors in conservation: a cautionary tale. *Science* **263:** 485–486.

Castric, V., Bernatchez, L. *et al.* (2001) Heterozygote deficiencies in small lacustrine populations of brook charr *Salvelinus fontinalis Mitchill* (Pisces, Salmonidae): a test of alternative hypotheses. *Heredity* **89:** 27–35.

Caughley, G. (1994) Directions in conservation biology. *Journal of Animal Ecology* **63:** 215–244.

Cavalli-Sforza, L.L., Moroni, A. *et al.* (2004) *Consanguinity, Inbreeding and Genetic Drift in Italy*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Cegelski, C., Waits, L. *et al.* (2003) Assessing population structure and gene flow in Montana wolverines (*Gulo gulo*) using assignment-based approaches. *Molecular Ecology* **12:** 2907–2918.

Charlesworth, B., Charlesworth, D. *et al.* (2003) The effects of genetic and geographic structure on neutral variation. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **34:** 99–125.

Charlesworth, D. and B. Charlesworth (1987) Inbreeding depression and its evolutionary consequences. *Annual Review of Ecology and Systematics* **18:** 237.

Charlesworth, D. and Charlesworth, B. (1999) The genetic basis of inbreeding depression. *Genetical Research* **74:** 329–340.

Cheung, F., Haas, B. *et al.* (2006) Sequencing *Medicago truncatula* expressed sequenced tags using 454 Life Sciences technology. *BMC Genomics* **7:** 272.

Cheverud, J. and Routman, E. (1996) Epistasis as a source of increased additive genetic variance of population bottleneck. *Evolution* **47:** 1042–1051.

Chistiakow, D.A., Hellemans, B. *et al.* (2006) Microsatellites and their genomic distribution, evolution, function and applications: a review with special reference to fish genetics. *Aquaculture* **255:** 1–29.

Cole, C.T. (2003) Genetic variation in rare and common plants. *Annual Review of Ecology Evolution and Systematics* **34:** 213–237.

Colosimo, P.F., Peichel, C.L. *et al.* (2004) The genetic architecture of parallel armor plate reduction in threespine sticklebacks. *PLoS Biology* **2:** e109.

Coltman, D., O'Donoghue, P. *et al.* (2003) Undesirable evolutionary consequences of trophy hunting. *Nature* **426:** 655–658.

Coltman, D.W. and Slate, J. (2003) Microsatellite measures of inbreeding: a meta analysis. *Evolution* **57:** 971–983.

Coltman, D.W., Bowen, W.D. *et al.* (1998) Birth weight and neonatal survival of harbour seal pups are positively correlated with genetic variation measured by microsatellites. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **265:** 803–809.

Coltman, D.W., Pilkington, J.G. *et al.* (1999) Parasite-mediated selection against inbred Soay sheep in a free-living, island population. *Evolution* **53:** 1259–1267.

Conner, J.K. and Hartl, D.L. (2004) *A Primer of Ecological Genetics*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Corander, J., Waldmann, P. *et al.* (2003) Bayesian analysis of genetic differentiation between populations. *Genetics* **163:** 367–374.

Corin, S.E., Abbott, K.L. *et al.* (2007) Large scale unicoloniality: the population and colony structure of the invasive Argentine ant (*Linepithema humile*) in New Zealand. *Insectes Sociaux* **54:** 275–282.

Cork, J.M. and Purugganan, M.D. (2005) High-diversity genes in the *Arabidopsis* genome. *Genetics* **170:** 1897–1911.

Cornuet, J. and Luikart, G. (1996) Description and power analysis of two tests for detecting recent population bottlenecks from allele frequency data. *Genetics* **144:** 2001–2014.

Cornuet, J., Piry, S. *et al.* (1999) New methods employing multilocus genotypes to select or exclude populations as origins of individuals. *Genetics* **153:** 1989–2000.

Costello, A.B., Down, T.E. *et al.* (2003) The influence of history and contemporary stream hydrology on the evolution of genetic diversity within species: an examination of microsatellite DNA variation in bull trout, *Salvelinus confluentus* (Pisces: Salmonidae). *Evolution* **57:** 328–344.

Coulon, A., Guillot, G. *et al.* (2006) Genetic structure is influenced by landscape features: empirical evidence from a roe deer population. *Molecular Ecology* **15:** 1669–1679.

Coulson, T.N., Pemberton, J.M. *et al.* (1998) Microsatellites reveal heterosis in red deer. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **265:** 489–495.

Coulson, T.N., Albon, S.D. *et al.* (1999) Microsatellite loci reveal sex-dependent responses to inbreeding and outbreeding in red deer calves. *Evolution* **53:** 1951–1960.

Crandall, K.A., Bininda-Emonds, O.R.P. *et al.* (2000) Considering evolutionary processes in conservation biology. *Trends in Ecology and Evolution* **15:** 290–295.

Creel, S. (2006) Recovery of the Florida panther—genetic rescue, demographic rescue, or both? Response to Pimm *et al.* (2006). *Animal Conservation* **9:** 125–126.

Crnokrak, P. and Roff, D.A. (1999) Inbreeding depression in the wild. *Heredity* **83:** 260–270.

Culver, M., Hedrick, P.W. *et al.* (2008) Estimation of the bottleneck size in Florida panthers. *Animal Conservation* **11:** 104–110.

Dalén, L., Fuglei, E. *et al.* (2005) Population history and genetic structure of a circumpolar species: the arctic fox. *Biological Journal of the Linnean Society* **84:** 79–89.

Dannewitz, J., Maess, G. *et al.* (2005) Panmixia in the European eel: a matter of time. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **272:** 1129–1137.

Daszak, P., Berger, L. *et al.* (1999) Emerging infectious diseases and amphibian population declines. *Emerging Infectious Diseases* **5:** 735–748.

Daszak, P., Cunningham, A.A. *et al.* (2003) Infectious disease and amphibian population declines. *Diversity and Distributions* **9:** 141–150.

Dawson, K. and Belkhir, K. (2001) A Bayesian approach to the identification of panmictic populations and the assignment of individuals. *Genetical Research* **78:** 59–77.

de Maynadier, P. and Hunter, M. (1999) Forest canopy closure and juvenile emigration by

pond-breeding amphibians in Maine. *Journal of Wildlife Management* **63:** 441–450.

de Vienne, D., Bost, B. *et al.* (2001) Genetic variability of proteome expression and metabolic control. *Plant Physiology and Biochemistry* **39:** 271–283.

Dias, P. and Blondel, J. (1997) Local specialization and maladaptation in the Mediterranean blue tit (*Parus caeruleus*). *Oecologia* **107:** 79–86.

Dice, L.R. (1947) Effectiveness of selection by owls of deer-mice (*Peromyscus maniculatus*) which contrast in color with their background. *Contributions from the Laboratory of Vertebrate Zoology, University of Michigan* **34:** 1–20.

Dizon, A.E., Lockyer, C., Perrin, W.F. *et al.* (1992) Rethinking the stock concept: a phylogeographic approach. *Conservation Biology* **6:** 24–36.

Dobzhansky, T. (1948) Genetics of natural populations. Xviii. Experiments on chromosomes of *Drosophila pseudoobscura* from different geographic regions. *Genetics* **33:** 588–602.

Doerge, R. (2002) Mapping and analysis of quantitative trait loci in experimental populations. *Nature Reviews Genetics* **3:** 43–52.

Doherty, P.C. and Zinkernagel, R.M. (1975) A biological role for the major histocompatibility antigens. *Lancet* **1:** 1406–1409.

Dong, Q., Kroiss, L. *et al.* (2005) Comparative EST analysis in plant systems. *Methods in Enzymology: Producing the Biochemical Data* **395:** 400–418.

Drake, B.M., Goto, R.M. *et al.* (1999) Molecular and immunogenetic analysis of major histocompatibility haplotypes in northern bobwhite enable direct identification of corresponding haplotypes in an endangered subspecies, the masked bobwhite. *Zoo Biology* **18:** 279–294.

Easteal, S. (1981) The history of introductions of *Bufo marinus* (Amphibia: Anura): a natural experiment in evolution. *Biological Journal of the Linnean Society* **16:** 93–113.

Edwards, S., Wakeland, E. *et al.* (1995) Contrasting histories of avian and mammalian Mhc genes revealed by class II B sequences from songbirds. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* **92:** 12200–12204.

Edwards, S., Gasper, J. *et al.* (1998) Genomics and polymorphism of Agph-DAB1, an Mhc class II B gene in red-winged blackbirds (*Agelaius phoeniceus*). *Molecular Biological Evolution* **15:** 236–250.

Edwards, S.V. and Hedrick, P.W. (1998) Evolution and ecology of MHC molecules: from genomics to sexual selection. *Trends in Ecology and Evolution* **13:** 305–311.

Edwards, S.V., Gasper, J. *et al.* (2000) A 39-kb sequence around a blackbird Mhc class II gene: ghost of selection past and songbird genome architecture. *Molecular Biological Evolution* **17:** 1384–1395.

Edwards, S.V., Liu, L. *et al.* (2007) High-resolution species trees without concatenation. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **104:** 5936–5941.

Eisen, J. (1999) Mechanistic basis for microstallite instability. In *Microstallites, Evolution and Applications*, D. Goldstein and C. Schlötterer (eds), pp. 34–78. Oxford: Oxford University Press.

Ekblom, R. (2003) *Immunoecology of the Great Snipe (Gallinago media): Mate Choice, MHC Variation, and Humoral Immunocompetence in a Lekking Bird.* PhD thesis, Uppsala University, Uppsala.

Ekblom, R., Grahn, M. *et al.* (2003) Patterns of polymorphism in the MHC class II of a nonpasserine bird, the great snipe (*Gallinago media*). *Immunogenetics* **54:** 734–41.

Ekblom, R., Saether, S.A. *et al.* (2007) Spatial pattern of MHC class II variation in the great snipe (*Gallinago media*). *Molecular Ecology* **16:** 1439–1451.

Ekblom, R., Saether, S. *et al.* (2008) Sexual selection, geographic structure and balancing selection in MHC genes of Great Snipe. *Genetica* in press.

Elgar, M.A. and Clode, D. (2001) Inbreeding and extinction in island populations: a cautionary note. *Conservation Biology* **15:** 284–286.

Ellegren, H. (1999) Inbreeding and relatedness in Scandinavian grey wolves *Canis lupus*. *Hereditas* **130:** 239–244.

Ellegren, H., Hartman, G. *et al.* (1993) Major histocompatibility complex monomorphism and low levels of DNA fingerprinting variability in a reintroduced and rapidly expanding population of beavers. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **90:** 8150–8153.

Ellegren, H., Mikko, S. *et al.* (1996) Limited polymorphism at major histocompatibility complex (MHC) loci in the Swedish moose *A. alces*. *Molecular Ecology* **5:** 3–9.

El-Mousadik, A. and Petit, R.J. (1996) Chloroplast DNA phylogeography of the argan tree of Morocco. *Molecular Ecology* **5:** 547–555.

Epps, C., Palsbøll, P. *et al.* (2005) Highways block gene flow and cause a rapid decline in genetic diversity of desert bighorn sheep. *Ecology Letters* **8:** 1029–1038.

Erickson, D., Fenster, C. *et al.* (2004) Quantitative trait locus analyses and the study of evolutionary process. *Molecular Ecology* **13:** 2505–2522.

Erwin, D.H. (2006) *Extinction: How Life on Earth Nearly Ended 250 Million Years Ago*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Erwin, T. (1991) An evolutionary basis for conservation strategies. *Science* **253:** 750–753.

Estoup, A., Wilson, I.J. *et al.* (2001) Inferring population history from microsatellite and enzyme data in serially introduced cane toads, *Bufo marinus*. *Genetics* **159:** 1671–1687.

Estoup, A., Beaumont, M. *et al.* (2004) Genetic analysis of complex demographic scenarios: spatially expanding populations of the Cane toad, *Bufo marinus*. *Evolution* **58:** 2021–2036.

Evanno, G., Regnaut, S. *et al.* (2005) Detecting the number of clusters of individuals using the software STRUCTURE: a simulation study. *Molecular Ecology* **14:** 2611–2620.

Fagan, W.F. and Holmes, E.E. (2006) Quantifying the extinction vortex. *Ecology Letters* **9:** 51–60.

Falconer, D.S. and Mackay, T.F.C. (1996) *Introduction to Quantitative Genetics*. Harlow: Addison Wesley Longman.

Fallon, S.M. (2007) Genetic data and the listing of species under the U.S. Endangered Species Act. *Conservation Biology* **21:** 1186–1195.

Fay, J.C. and Wu, C.-I. (2000) Hitchhiking under positive Darwinian selection. *Genetics* **155:** 1405–1413.

Fenster, C.B. and Galloway, L.F. (2000) Inbreeding and outbreeding depression in natural populations of *Chamaecrista fasciculate* (Fabaceae). *Conservation Biology* **14:** 1406–1412.

Ferreira, A.G.A. and Amos, W. (2006) Inbreeding depression and multiple regions showing heterozygote advantage in *Drosophila melanogaster* exposed to stress. *Molecular Ecology* **15:** 3885–3893.

Ferrière, R., Dieckmann, U. *et al.* (eds) (2004) *Evolutionary Conservation Biology*. Cambridge: Cambridge University Press.

Fidler, A. and Gwinner, E. (2003) Comparative analysis of avian BMAL1 and CLOCK protein sequences: a search for features associated with owl nocturnal behaviour. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B Biochemistry and Molecular Biology* **136:** 861–874.

Fisher, R.A. (1930) *The Genetical Theory of Natural Selection*. Oxford: Clarendon Press. Flajnik, M., Ohta, Y. *et al.* (1999) Insight into the primordial MHC from studies in ectothermic vertebrates. *Immunological Reviews* **167:** 59–67.

Fleischmann, R.D., Adams, M.D. *et al.* (1995) Whole-genome random sequencing and assembly of *Haemophilus influenzae* Rd. *Science* **269:** 496–512.

Fleming, I., Hindar, K. *et al.* (2000) Lifetime success and interactions of farm salmon invading a native population. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **267:** 1517–1523.

Flint, J. and Mott, R. (2001) Finding the molecular basis for quantitative traits: successes and pitfalls. *Nature Reviews Genetics* **2:** 437–445.

Florin, A.-B. and Höglund, J. (2007) Absence of population structure of turbot (*Psetta maxima*) in the Baltic Sea. *Molecular Ecology* **16:** 115–126.

Florin, A.-B. and Höglund, J. (2008) Population structure of flounder (*Platichthys flesus*) in the Baltic Sea: differences among demersal and pelagic spawners. Heredity **101:** 27–38.

Fondon, J. and Garner, H. (2004) Molecular origins of rapid and continuous morphological evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101:** 18058–18063.

Ford, M. (2002) Applications of selective neutrality tests to molecular ecology. *Molecular Ecology* **11:** 1245–1262.

Frankel, O.H. and Soulé, M.E. (1981) *Conservation and Evolution.* New York: Cambridge University Press.

Frankham, R. (1995) Conservation genetics. *Annual Review of Genetics* **29:** 305–327.

Frankham, R. (1996) Relationship of genetic variation to populaton size in wildlife. *Conservation Biology* **10:** 1500–1508.

Frankham, R. (1999) Quantitative genetics in conservation biology. *Genetical Research* **74:** 237–244.

Frankham, R., Gilligan, D. M. *et al.* (2001) Inbreeding and extinction: effects of purging. *Conservation Genetics* **2:** 279–284.

Frankham, R., Ballou, J.D. *et al.* (2002) *Introduction to Conservation Genetics*. Cambridge: Cambridge University Press.

Franklin, I.R. (1980) Evolutionary change in small populations. In *Conservation Biology*, M.E. Soulé and M. Wilcox (eds), pp. 137–149. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Fraser, D.J. and Bernatchez, L. (2001) Adaptive evolutionary conservation: towards a unified concept for defining conservation units. *Molecular Ecology* **10:** 2741–2752.

Freeman-Gallant, C., Johnson, E. *et al.* (2002) Variation at the major histocompatibility complex in savannah sparrows. *Molecular Ecology* **11:** 1125–1130.

Frentiu, F., Clegg, S. *et al.* (2008) Pedigree-free animal models: the relatedness matrix reloaded. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **275:** 639–647.

Fu, Y. (1996) New statistical tests of neutrality for DNA samples from a population. *Genetics* **143:** 557–570.

Fu, Y.X. and Li, W.H. (1993) Statistical tests of neutrality of mutations. *Genetics* **133:** 693–709.

Funk, W., Blouin, M. *et al.* (2005) Population structure of Columbia spotted frogs (*Rana luteiventris*) is strongly affected by the landscape. *Molecular Ecology* **14:** 483–496.

Gaggiotti, O. E. (2003) Genetic threats to population persistence. *Annales Zoologici Fennici* **40:** 155–168.

Gamfeldt, L. and Källström, B. (2007) Increasing intraspecific diversity increases predictability in population survival in the face of perturbations. *Oikos* **116:** 700–705.

Garrigan, D. and Hedrick, P. (2003) Detecting adaptive molecular polymorphism: lessons from the mhc. *Evolution* **57:** 1707–1722.

Garza, J. and Williamson, E. (2001) Detection of reduction in population size using data from microsatellite loci. *Molecular Ecology* **10:** 305–318.

Gibbs, H.L. and Grant, P.R. (1989) Inbreeding in Darwin's medium ground finches (*Geospiza fortis*). *Evolution* **43:** 1273–1284.

Gilligan, D.M., Briscoe, D.A. *et al.* (2005) Comparative losses of quantitative and molecular genetic variation in finite populations of *Drosophila melanogaster*. *Genetics Research* **85:** 47–55.

Gilpin, M.E. and Soulé, M.E. (1986) Minimum viable populations: processes of species extinctions. In *Conservation Biology: the Science of Scarcity and Diversity*, M. Soulé (ed.), pp. 19–34. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Goldstein, D.B. and Schlötterer, C. (eds) (1999) *Microsatellites, Evolution and Applications*. Oxford: Oxford University Press.

Gompert, Z., Nice, C.C. *et al.* (2006) Identifying units for conservation using molecular systematics: the cautionary tale of the Karner blue butterfly. *Molecular Ecology* **15:** 1759–1768.

Goossens, B., Chikhi, L. *et al.* (2006) Genetic signature of anthropogenic population collapse in orang-utans. *PLoS Biology* **4:** e25.

Gorg, A., Weiss, W. *et al.* (2004) Current two-dimensional electrophoresis technology for proteomics. *Proteomics* **4:** 3665–3685.

Goto, R., Afanassieff, M. *et al.* (2002) Single-strand conformation polymorphism (SSCP) assays for major histocompatibility complex B genotyping in chickens. *Poultry Science* **81:** 1832–1841.

Goudet, J. (2002) *FSTAT version 2.9.3.2*. Lausanne: University of Lausanne.

Goudet, J. and Büchi, L. (2006) The effects of dominance, regular inbreeding and sampling design on QST, an estimator of population differentiation for quantitative traits. *Genetics* **172:** 1337–1347.

Grahn, M. and Forsberg, L. (2008) Homozygote advantage at the MHC: more evidence foroutbreeding depression. In *Genetic Aspects of Sexual Selection and Mate Choice in Salmonids*, L. Forsberg (ed.). Uppsala: Uppsala University.

Grant, B.R. and Grant, P.R. (1989) *Evolutionary Dynamics of a Natural Population: the Large Cactus Finch of the Galápagos*. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Grant, P.R. (1986) *Ecology and Evolution of Darwin's Finches*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Grant, P.R. and Grant, B.R. (1995) The founding of a new population of Darwin's finches. *Evolution* **49:** 229–240.

Grant, P.R. and Grant, B.R. (2002) Unpredictable evolution in a 30-year study of Darwin's finches. *Science* **296:** 707–711.

Grant, P.R. and Grant, B.R. (2007) *How and Why Species Multiply: the Radiation of Darwin's Finches*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Grimholt, U., Getahun, A. *et al.* (2000) The major histocompatibility class II alpha chain in salmonid fishes. *Developmental & Comparative Immunology* **24:** 751–763.

Grivet, D., Sork, V.L. *et al.* (2008) Conserving the evolutionary potential of California valley oak (*Quercus lobata* Née**)**: a multivariate genetic approach to conservation planning. *Molecular Ecology* **17:** 139–156.

Groombridge, J.J., Jones, C.G. *et al.* (2000) Conservation biology: 'ghost' alleles of the Mauritius kestrel. *Nature* **403:** 616.

Gross, A.O. (1928) The heath hen. *Memoirs of the Boston Society of Natural History* **6:** 489–588.

Gross, A.O. (1930) *Progress Report of the Wisconsin Prairie Chicken Investigation*. Madison, WI: Wisconsin Conservation Commission.

Guillot, G., Estoup, A. *et al.* (2005) A spatial statistical model for landscape genetics. *Genetics* **170:** 1261–1280.

Gustafsson, L. (1986) Lifetime reproductive success and heritability: empirical support for Fisher's fundamental theorem. *American Naturalist* **128:** 761–764.

Gustafsson, L. (1988) Interspecific competition lowers fitness in the collared flycatcher (*Ficedula*

albicollis). *Ecology* **68:** 281–286.

Gutierrez-Espeleta, G.A., Hedrick, P. W. *et al.* (2001) Is the decline of desert bighorn sheep from infectious disease the result of low MHC variation? *Heredity* **86:** 439–450.

Gyllenstrand, N., Clapham, D. *et al.* (2007) A Norway spruce FLOWERING LOCUS T homolog is implicated in control of growth rhythm in conifers. *Plant Physiol.* **144:** 248–257.

Hajji, G., Zachos, F. *et al.* (2007) Conservation genetics of the imperilled Barbary red deer in Tunisia. *Animal Conservation* **10:** 229–235.

Hampe, A. and Petit, R. (2005) Conserving biodiversity under climate change: the rear edge matters. *Ecology Letters* **8:** 461–467.

Hansson, B. and Westerberg, L. (2002) On the correlation between heterozygosity and fitness in natural populations. *Molecular Ecology* **11:** 2467–2474.

Hansson, B., Åkesson, M. *et al.* (2005) Linkage mapping reveals sex-dimorphic map distances in a passerine bird. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **272:** 2289–2298.

Hassel, K., Såstad, S.M. *et al.* (2005) Genetic variation and structure in the expanding moss *Pogonatum dentatum* (Polytrichaceae) in its area of origin and in a recently colonized area. *American Journal of Botany* **92:** 1684–1690.

Hauswaldt, J., Stuckas, H. *et al.* (2007) Molecular characterization of MHC class II in a nonmodel anuran species, the fire-bellied toad *Bombina bombina*. *Immunogenetics* **59:** 479–491.

Hedrick, P. (1999) Perspective: highly variable loci and their interpretation in evolution and conservation. *Evolution* **53:** 313–318.

Hedrick, P. (2005) A standardized genetic differentiation measure. *Evolution* **59:** 1633–1638.

Hedrick, P.W. (2006) Genetic polymorphism in heterogeneous environments: the age of genomics. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **37:** 67–93.

Hedrick, P., Parker, K. *et al.* (2000) Major histocompatibility complex variation in the Arabian oryx. *Evolution* **54:** 2145–2151.

Hedrick, P.W. (2000) *Genetics of Populations*. Sudbury, MA: Jones and Bartlet.

Hedrick, P.W. (2001) Conservation genetics: where are we now? *Trends in Ecology and Evolution* **16:** 629–636.

Hedrick, P.W. (2002) Pathogen resistance and genetic variation at MHC loci. *Evolution* **56:** 1902–1908.

Hedrick, P.W. and Kalinowski, S.T. (2000) Inbreeding depression in conservation biology. *Annual review of Ecology and Systematics* **31:** 139–216.

Hendry, A. (2000) Rapid evolution of reproductive isolation in the wild: evidence from introduced salmon. *Science* **290:** 516–518.

Hendry, A.P., Grant, P.R. *et al.* (2006) Possible human impacts on adaptive radiation: beak size bimodality in Darwin's finches. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **273:** 1887–1894.

Hendry, A.P., Farrugia, T.J. *et al.* (2008) Human influences on rates of phenotypic change in wild animal populations. *Molecular Ecology* **17:** 20–29.

Hewitt, G.M., Butlin, R.K. *et al.* (1987) Testicular dysfunction in hybrids between parapatric subspecies of the grasshopper *Chorthippus parallelus*. *Biological Journal of the Linnean Society* **31:** 25–34.

Hirschhorn, J. and Daly, M. (2005) Genome-wide association studies for common diseases and complex traits. *Nature Reviews Genetics* **6:** 95–108.

Hitchings, S.P. and Beebee, T.J.C. (1998) Loss of genetic diversity and fitness in common toad (*Bufo bufo*) populations isolated by inimical habitat. *Journal of Evolutionary Biology* **11:** 269–283.

Hoekstra, H. (2006) Genetics, development and evolution of adaptive pigmentation in vertebrates.

Heredity **97:** 222–234.
Hoekstra, H. and Nachman, M. (2003) Different genes underlie adaptive melanism in different populations of rock pocket mice. *Molecular Ecology* **12:** 1185–1194.
Hoekstra, H., Krenz, J. *et al.* (2005) Local adaptation in the rock pocket mouse (*Chaeotdipus intermedius*)**:** natural selection and phylogenetic history of populations. *Heredity* **94:** 217–228.
Hoelzel, A., Stephens, J. *et al.* (1999) Molecular genetic diversity and evolution at the MHC DQB locus in four species of pinnipeds. *Molecular Biology and Evolution* **16:** 611–618.
Hoelzel, A.R., Halley, J. *et al.* (1993) Elephant seal genetic variation and the use of simulation models to investigate historical population bottlenecks. *Journal of Heredity* **84:** 443–449.
Hofman, M. (2007) *The Effect of Genetic Diversity on Evolutionary Potential: Local Adaptation in the Natterjack Toad Bufo calamita in Sweden.* MSc thesis, Uppsala, Uppsala University.
Höglund, J. and Shorey, L. (2003) Local genetic structure in a white-bearded manakin population. *Molecular Ecology* **12:** 2457–2463.
Höglund, J. and Shorey, L. (2004) Genetic divergence in the superspecies Manacus. *Biological Journal of the Linnean Society* **81:** 439–447.
Höglund, J., Piertney, S.B. *et al.* (2002) Inbreeding and male fitness in a wild population. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **269:** 711–715.
Höglund, J., Larsson, J.K. *et al.* (2007) Genetic variability in European black grouse (*Tetrao tetrix*). *Conservation Genetics* **8:** 239–243.
Höglund, J., Johansson, T. *et al.* (2008) Phylogeography of the black-tailed godwit *Limosa limosa*: substructuring revealed by mtDNA control region sequences. *Journal of Ornithology* (in press).
Höglund, L. (1961) The reactions of fish in concentration gradients. *Reprints from the Institute of Freshwater Research Drottningholm* **43:** 1–147.
Holderegger, R. and Wagner, H. (2006) A brief guide to landscape genetics. *Landscape Ecology* **21:** 793–796.
Holsinger, K.E., Mason-Gamer, R.J. *et al.* (1999) Genes, demes, and plant conservation. In *Genes, Species, and the Threat of Extinction: DNA and Genetics in the Conservation of Endangered Species*, L.F. Landweber and A.P. Dobson (eds), pp. 23–46. Princeton, NJ: Princeton University Press.
Horton, R., Wilming, L. *et al.* (2004) Gene map of the extended human MHC. *Nature Reviews Genetics* **5:** 889–899.
Houle, D. (1992) Comparing evolvability and variability of quantitative traits. *Genetics* **130:** 195–204.
Hudson, P. and Baines, D. (1993) Black grouse. In *The New Atlas of Breeding Birds in Britain and Ireland 1988–1991,* D. Gibbons *et al.* (eds), pp. 130–131. T. & A.D. Poyser, London.
Hudson, R., Kreitman, M. *et al.* (1987) A test of neutralmolecular evolution based on nucleotide data. *Genetics* **116:** 153–159.
Huennecke, L.F. (1991) Ecological implications of genetic variation in plant populations. In *Genetics and Conservation of Rare Plants*, D.A. Falk and K.E. Holsinger (eds), pp. 31–44. New York: Oxford University Press.
Hughes, A. and Nei, M. (1988) Pattern of nucleotide substitution at major histocompatibility complex class-I loci reveals overdominant selection. *Nature* **335:** 167–170.
Hunt, H., Goto, R. *et al.* (2006) At least one YMHCI molecule in the chicken is alloimmunogenic and dynamically expressed on spleen cells during development. *Immunogenetics* **58:** 297–307.
Hutchings, J.A. and Fraser, D.J. (2008) The nature of fisheries- and farming induced evolution. *Molecular Ecology* **17:** 294–313.
Ingvarsson, P.K. (2001) Restoration of genetic variation lost—the genetic rescue hypothesis. *Trends in*

Ecology and Evolution **16:** 62–63.

Ingvarsson, P.K. (2002) Lone wolf to the rescue. *Nature* **420:** 472.

Ingvarsson, P.K. and Whitlock, M.C. (2000) Heterosis increases the effective migration rate. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **267:** 1321–1326.

Ingvarsson, P.K., Garcia, M.V. *et al.* (2008) Nucleotide polymorphism and phenotypic associations within and around the phytochrome B2 locus in European aspen (*Populus tremula*, Salicaceae). *Genetics* **178:** 2217–2226.

IPCC (2007) *Climate Change- Synthesis Report*. Geneva: IPCC.

Jackson, I. (1994) Molecular and developmental genetics of mouse coat color. *Annual Review of Genetics* **28:** 189–217.

Jansen, R. and Nap, J. (2001) Genetical genomics: the added value from segregation. *Trends in Genetics* **17:** 388–391.

Janssens, X., Fontaine, M. *et al.* (2008) Genetic pattern of the recent recovery of European otters in southern France. *Ecography* **31:** 176–186.

Jarvi, S.I., Tarr, C.L. *et al.* (2004) Natural selection of the major histocompatibility complex (MHC) in Hawaiian honeycreepers (Drepanidinae). *Molecular Ecology* **13:** 2157–68.

Jarvi, S.I., Tarr, C.L. *et al.* (2004) Natural selection of the major histocompatibility complex (Mhc) in Hawaiian honeycreepers (Drepanidinae). *Molecular Ecology* **13:** 2157–2168.

Jennings, W. and Edwards, S. (2005) Speciational history of Australian grass finches (Poephila) inferred from thirty gene trees. *Evolution* **59:** 2033–2047.

Jensen, L., Hansen, M. *et al.* (2008) Spatially and temporally fluctuating selection at non MHC immune genes: evidence from TAP polymorphism in populations of brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Heredity* **100:** 79–91.

Johannesson, K. and André, C. (2006) Life on the margin: genetic isolation and diversity loss in a peripheral marine ecosystem, the Baltic Sea. *Molecular Ecology* **15:** 2013–2029.

Johannesson, K., Johannesson, B. *et al.* (1995) Strong naturalselection causes microscale allozyme variation in a marine snail. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **92:** 2602–2606.

Johansson, M., Primmer, C.R. *et al.* (2007) Does habitat fragmentation reduce fitness and adaptability? A case study of the common frog (*Rana temporaria*). *Molecular Ecology* **16:** 2693–2700.

Johnsen, A., Fidler, A.E. *et al.* (2007) Avian Clock gene polymorphism: evidence for a latitudinal cline in allele frequencies. *Molecular Ecology* **16:** 4867–4880.

Johnson, J.A. and Dunn, P.O. (2006) Low genetic variation in the heath hen prior to extinction and implications for the conservation of prairie-chicken populations. *Conservation Genetics* **7:** 37–48.

Jonsson, N., Jonsson, B. *et al.* (1996) Does early growth cause a phenotypically plastic response in egg production of Atlantic salmon? *Functional Ecology* **10:** 89–96.

Jordan, W.C. and Bruford, M.W. (1998) New perspectives on mate choice and the MHC. *Heredity* **81:** 127–133.

Jorde, P.E. and Ryman, N. (1995) Temporal allele frequency change and estimation of effective size in populations with overlapping generations. *Genetics* **139:** 1077–1090.

Jorde, P.E. and Ryman, N. (1996) Demographic genetics of brown trout (*Salmo trutta*) and estimation of effective population size from temporal change of allele frequencies. *Genetics* **143:** 1369–1381.

Jorde, P.E. and Ryman, N. (2007) Unbiased estimator for genetic drift and effective population size. *Genetics* **177:** 927–935.

Jørgensen, C., Enberg, K. *et al.* (2007) Managing evolving fish stocks. *Science* **318:** 1247–1248.

Kalinowski, S.T. and Hedrick, P.W. (1998) An improved method for estimating inbreeding depression in pedigrees. *Zoo Biology* **17:** 481–497.

Karp, A., Edwards, K.J. *et al.* (1997) Molecular technologies for biodiversity evaluation: opportunities and challenges. *Nature Biotechnology* **15:** 625–628.

Kauer, M., Dieringer, D. *et al.* (2003) Nonneutral admixture of immigrant genotypes in african *Drosophila melanogaster* populations from Zimbabwe. *Molecular Biology and Evolution* **20:** 1329–1337.

Kaufman, J. (2000) The simple chicken major histocompatibility complex: life and death in the face of pathogens and vaccines. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B Biological Sciences* **355:** 1077–1084.

Kaufman, J., Milne, S. *et al.* (1999) The chicken B locus is a minimal essential major histocompatibility complex. *Nature* **401:** 923–925.

Kawamoto, Y., Tomari, K. *et al.* (2007) Genetics of the Shimokita macaque population suggest an ancient bottleneck. *Primates* **49:** 32–40.

Keller, L.F. (1998) Inbreeding and its fitness effects in an insular population of song sparrows (*Melospiza melodia*). *Evolution* **52:** 240–250.

Keller, L.F., Marr, A.B. *et al.* (2006) The genetic consequences of small population size: inbreeding and loss of genetic variation. In *Conservation and Biology of Small Populations*, J.N.M. Smith *et al.* (eds), pp. 113–137. New York: Oxford University Press.

Kempenaers, B. (2007) Mate choice and genetic quality: a review of the heterozygosity theory. *Advances in the Study of Behavior* **37:** 189–278.

Kerje, S., Lind, J. *et al.* (2003) Melanocortin 1-receptor (MC1R) mutations are associated with plumage colour in chicken. *Animal Genetics* **34:** 241–248.

Kettlewell, H.B.D. (1955) Recognition of appropriate backgrounds by the pale and black phases of Lepidoptera. *Nature* **175:** 943–944.

Kettlewell, H.B.D. (1956) A resume of investigations on the evolution of melanism in the Lepidoptera. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **145:** 297–303.

Kettlewell, H.B.D. (1958) A survey of the frequencies of *Biston betularia* (L.) (Lep.) and its melanic forms in Great Britain. *Heredity* **12:** 51–72.

Kimura, M. (1968) Evolutionary rate at the molecular level. *Nature* **217:** 624–626.

Kimura, M. (1969) The number of heterozygous nucleotide sites maintained in a finite population due to steady flux of mutations. *Genetics* **61:** 893–903.

Kimura, M. (1983) *The Neutral Theory of Molecular Evolution*. Cambridge: Cambridge University Press.

Kimura, M. and Crow, J.F. (1963) The measurement of effective population number. *Evolution* **17:** 279–288.

Kinnison, M.T. and Hendry, A.P. (2001) The pace of modern life II: from rates of contemporary microevolution to pattern and process. *Genetica* **112–113:** 145–164.

Kirkpatrick, M. and Barton, N. (1997) Evolution of species's range. *American Naturalist* **150:** 1–23.

Kirkpatrick, M. and Jarne, P. (2000) The effects of a bottleneck on inbreeding depression and the genetic load. *American Naturalist* **155:** 154–167.

Klein, J., Sato, A. *et al.* (1998) Molecular trans-species polymorphism. *Annual Review of Ecology and Systematics* **29:** 1–21.

Knight, J. (2004) Allele-specific gene expression uncovered. *Trends in Genetics* **20:** 113–116.

Kolbe, J.J., Glor, R.E. *et al.* (2004) Genetic variation increases during biological invasion by a Cuban lizard. *Nature* **431:** 177–181.

Koskinen, M.T., Piironen, J. *et al.* (2001) Interpopulation genetic divergence in European grayling (*Thymallus thymallus*, Salmonidae) at a microgeographic scale: implications for conservation.

Conservation Genetics **2:** 133–143.

Koskinen, M.T., Haugen, T.O. *et al.* (2002) Contemporary fisherian life-history evolution in small salmonid populations. *Nature* **419:** 826–830.

Kreitman, M. (2000) Methods to detect selection in populations with applications to the human. *Annual Review of Genomics & Human Genetics* **1:** 539–559.

Kreitman, M. and Akashi, H. (1995) Molecular evidence for natural selection. *Annual Review of Ecology and Systematics* **26:** 403–422.

Kristensen, T., Sørensen, P. *et al.* (2005) Genome-wide analysis on inbreeding effects on gene expression in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **171:** 157–167.

Krutovskii, K.V. and Neale, D.B. (2001) *Forest Genomics for Conserving Adaptive Genetic Diversity*. Forest Genetic Resources Working Papers. Forestry Department working paper FGR/3 (E). Forest Resources Development Service, Forest Resources Division. Rome: FAO.

Kruuk, L.E.B., Sheldon, B.C. *et al.* (2002) Severe inbreeding depression in collared flycatchers (*Ficedula albicollis*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **269:** 1581–1589.

Lack, D. (1947) *Darwin's Finches*. Cambridge: Cambridge University Press.

Lacy, R.C. and Ballou, J.D. (1998) Effectiveness of selection in reducing the genetic load in populations of *Peromyscus polionotus* during generations of inbreeding. *Evolution* **52:** 900–909.

Laikre, L. (1999) Conservation genetic management of brown trout (*Salmo trutta*) in Europe. *Report by the Concerted Action on Identification, Management and Exploitation of Genetic Resources in the Brown Trout ('TROUTCONCERT').*

Laikre, L. and Ryman, N. (1991) Inbreeding depression in a captive wolf (*Canis lupus*) population. *Conservation Biology* **5:** 33–40.

Laikre, L. and Ryman, N. (1996) Effects on intraspecific biodiversity from harvesting and enhancing natural populations. *Ambio* **25:** 504–509.

Laikre, L., Ryman, N. *et al.* (1997) Estimated inbreeding in a small, wild muskox *Ovibus moschatus* population and its possible effects on population reproduction. *Biological Conservation* **19:** 197–204.

Lande, R. (1976) Natural selection and random genetic drift in phenotypic evolution. *Evolution* **30:** 314–334.

Lande, R. (1988) Genetics and demography in biological conservation. *Science* **241:** 1455–1460.

Lande, R. (1992) Neutral theory of quantitative genetic variance in an island model with local extinctions and recolonization. *Evolution* **46:** 381–389.

Lande, R. (1995) Mutation and conservation. *Conservation Biology* **9:** 782–791.

Lande, R. (1999) Extinction risks from anthropogenic, ecological and genetic factors. In *Genetics and the Extinction of Species*, L.F. Landweber and A.P. Dobson (eds), pp. 1–22. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Lande, R. and Barrowclough, G.F. (1987) Effective populations size, genetic variation, and their use in population management. In *Viable Populations for Conservation*, M. Soulé (ed.), pp. 84–124. Cambridge: Cambridge University Press.

Lande, R. and Shannon, S. (1996) The role of genetic variation in adaptation and population persistence in a changing environment. *Evolution* **50:** 434–437.

Lande, R., Saether, B. *et al.* (1997) Threshold harvesting for sustainability of fluctuating resources. *Ecology* **78:** 1341–1350.

Landry, C. and Bernatchez, L. (2001) Comparative analysis of population structure across environments and geographical scales at major histocompatibility complex and microsatellite loci

in Atlantic salmon (*Salmo salar*). *Molecular Ecology* **10:** 2525–2539.

Landweber, L. and Dobson, A. (eds) (1999) *Genetics and the Extinction of Species*. Princeton, NJ: Princeton University Press.

Langefors, A., Lohm, J. *et al.* (2001) Association between major histocombatibility complex class IIB alleles and resistance to *Aeromonas salmonicida* in Atlantic salmon. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **268:** 479–485.

Larsson, J.K., Jansman, H.A.H. *et al.* (2008) Genetic impoverishment of the last black grouse (*Tetrao tetrix*) population in the Netherlands: detectable only with a reference from the past. *Molecular Ecology* **17:** 1897–1904.

Latta, R.G. (2008) Conservation genetics as applied evolution: from genetic pattern to evolutionary process. *Evolutionary Applications* **1:** 84–94.

Latter, B.D.H., Mulley, J.C. *et al.* (1995) Reduced genetic load revealed by slow inbreeding in *Drosophila melanogaster*. *Genetics* **139:** 287–297.

Laugen, A.T., Laurila, A. *et al.* (2003) Latitudinal countergradient variation in the common frog (*Rana temporaria*) development rates—evidence for local adaptation. *Journal of Evolutionary Biology* **16:** 996–1005.

Laurens, V., Chapusot, C. *et al.* (2001) Axolotl MHC class II beta chain: predominance of one allele and alternative splicing of the beta 1 domain. *European Journal of Immunology* **31:** 506–515.

Leder, E., Danzmann, R. *et al.* (2006) The candidate gene, Clock, localizes to a strong spawning time quantitative trait locus region in rainbow trout. *Journal of Heredity* **97:** 74–80.

Lee, C.E. (2002) Evolutionary genetics of invasive species. *Trends in Ecology and Evolution* **17:** 386–391.

Legendre, P. and Legendre, L. (1998) *Numerical Ecology*. Amsterdam: Elsevier.

Leinonen, T., O'Hara, R.B. *et al.* (2008) Comparative studies of quantitative trait and neutral marker divergence: a meta-analysis. *Journal of Evolutionary Biology* **21:** 1–17.

Lenormand, T. (2002) Gene flow and the limits to natural selection. *Trends in Ecology and Evolution* **17:** 183–189.

Lesica, P. and Allendorf, F. (1995) When are peripheral populations valuable for conservation? *Conservation Biology* **9:** 753–760.

Lever, C. (2001) *The Cane Toad. The History and Ecology of a Successful Colonist*. Otley, West Yorkshire: Westbury Academic and Scientific Publishing.

Lewontin, R.C. and Krakauer, J. (1973) Distribution of gene frequency as a test of the theory of selective neutrality of polymorphisms. *Genetics* **74:** 175–195.

Liberg, O.A., Andrén, H. *et al.* (2005) Severe inbreeding depression in a wild wolf (*Canis lupus*) population. *Biology Letters* **1:** 17–20.

Liu, L. and Pearl, D.K. (2007) Species trees from gene trees: reconstructing Bayesian posterior distributions of a species phylogeny using estimated gene tree distributions. *Systematic Biology* **56:** 504–514.

Loeschcke, V., Tomiuk, J. *et al.* (eds) (1994) *Conservation Genetics*. Basel: Birkhäuser Verlag.

Lönn, M., Prentice, H.C. *et al.* (1996) Genetic structure, allozyme-habitat associations and reproductive fitness in *Gypsophila fastigiata* (Caryophyllaceae). *Oecologia* **106:** 308–316.

Lönn, M. and Prentice, H.C. (2002) Gene diversity and demographic turnover in central and peripheral populations of the perennial herb *Gypsophila fastigiata*. *Oikos* **99:** 489–498.

Losos, J.B. (1990) Ecomorphology, performance capability, and scaling of West Indian *Anolis* lizards: an evolutionary analysis. *Ecological Monographs* **60:** 369–388.

Lucchini, V., Höglund, J. *et al.* (2001) Historical biogeography and a mitochondrial DNA phylogeny of

grouse and ptarmigan. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **20:** 149–162.

Lugon-Moulin, N. and Hausser, J. (2002) Phylogeographical structure, postglacial recolonization and barriers to gene flow in the distinctive Valais chromosome race of the common shrew (*Sorex araneus*). *Molecular Ecology* **11:** 785–794.

Luijten, S.H. (2001) *Reproduction and Genetics of Fragmented Plant Populations*. PhD thesis, University of Amsterdam, Amsterdam.

Luijten, S.H., Dierick, A. *et al.* (2000) Population size, genetic variation, and reproductive success in a rapidly declining, self-incompatible perennial (*Arnica montana*) in The Netherlands. *Conservation Biology* **14:** 1776–1787.

Luikart, G. and Cornuet, J. (1998) Empirical evaluation of a test for identifying recently bottlenecked populations from allele frequency data. *Conservation Biology* **12:** 228–237.

Luikart, G., England, P.R. *et al.* (2003) The power and promise of population genomics: from genotyping to genome typing. *Nature Review Genetics* **4:** 981–994.

Lynch, M., Burger, R. *et al.* (1993) The mutational meltdown in asexual populations. *Heredity* **47:** 1744–1757.

Lynch, M. and Milligan, B.G. (1994) Analysis of population genetic structure with RAPD markers. *Molecular Ecology* **3:** 91–99.

Lynch, M., Pfrender, M. *et al.* (1999) The quantitative and molecular genetic architecture of a subdivided species. *Evolution* **53:** 100–110.

Lyons, L., Laughlin, T. *et al.* (1997) Comparative anchor tagged sequences (CATS) for integrative mapping of mammalian genomes. *Nature Genetics* **15:** 47–56.

Madison, D. and Farrand, L. (1998) Habitat use during breeding and emigration in radio implanted tiger salamanders, *Ambystoma tigrinum*. *Copeia* **1998:** 402–410.

Madsen, T., Shrine, R. *et al.* (1999) Restoration of an inbred adder population. *Nature* **402:** 34–35.

Madsen, T., Olsson, M. *et al.* (2000) Population size and genetic diversity in sand lizards (*Lacerta agilis*) and adders (*Vipera berus*). *Biological Conservation* **94:** 257–262.

Madsen, T., Ujvari, B. *et al.* (2004) Novel genes continue to enhance population growth in adders (*Vipera berus*). *Biological Conservation* **120:** 145–147.

Maehr, D.S., Crowley, P. *et al.* (2006) Of cats and Haruspices: genetic intervention in the Florida panther. Response to Pimm *et al.* (2006). *Animal Conservation* **9:** 127–132.

Majerus, M.E.N. (1998) *Melanism: Evolution in Action*. Oxford: Oxford University Press.

Makova, K. and Norton, H. (2005) Worldwide polymorphism at the MC1R locus and normal pigmentation variation in humans. *Peptides* **26:** 1901–1908.

Malécot, G. (1948) *Mathématiques de l'hérédité*. Paris: Masson.

Mandak, B., Bimova, K. *et al.* (2005) Loss of genetic variation in geographically marginal populations of *Atriplex tatarica* (Chenopodiaceae). *Annals of Botany* **96:** 901–912.

Manel, S., Schwartz, M. *et al.* (2003) Landscape genetics: combining landscape ecology and population genetics. *Trends in Ecology and Evolution* **18:** 189–197.

Margulies, M., Egholm, M. *et al.* (2005) Genome sequencing in microfabricated high-density picolitre reactors. *Nature* **437:** 376–380.

Mariette, S., Le Corre, V. *et al.* (2002) Sampling within the genome for measuring within population diversity: trade-offs between markers. *Molecular Ecology* **11:** 1145–1156.

Markert, J.A., Grant, P.R. *et al.* (2004) Neutral locus heterozygosity, inbreeding, and survival in Darwin's ground finches (*Geospiza fortis* and *G. scandens*). *Heredity* **92:** 306–315.

Maruyama, T. and Fuerst, P. (1984) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. I. Allele numbers when populations evolve from zero variability. *Genetics* **108:** 745–763.

Maruyama, T. and Fuerst, P.A. (1985) Population bottlenecks and nonequilibrium models in population genetics. II. Number of alleles in a small population that was formed by a recent bottleneck. *Genetics* **111:** 675–689.

Massingham, T. and Goldman, N. (2005) Detecting amino acid sites under positive selection and purifying selection. *Genetics* **169:** 1753–1762.

Maynard Smith, J. (1998) *Evolutionary Genetics*. Oxford: Oxford University Press.

Mays, H.L. and Hill, G.E. (2004) Choosing mates: good genes versus genes that are a good fit. *Trends in Ecology and Evolution* **19:** 554–559.

McDonald, J. and Kreitman, M. (1991) Adaptive protein evolution at the Adh locus in Drosophila. *Nature* **351:** 652–654.

McKay, J.K. and Latta, R.G. (2002) Adaptive population divergence: markers, QTL and traits. *Trends in Ecology and Evolution* **17:** 285–291.

McKeigue, P. (2005) Prospects for admixture mapping of complex traits. *American Journal of Human Genetics* **76:** 1–7.

McNeilly, T. (1968) Evolution in closely adjacent plant populations. III. *Agrostis tenuis* on a small copper mine. *Heredity* **23:** 99–108.

McNielly, T. and Bradshaw, A.D. (1968) Evolutionary processes in populations of copper tolerant *Agrostis tenuis*. *Evolution* **22:** 108–18.

McRae, B., Beier, P. *et al.* (2005) Habitat barriers limit gene flow and illuminate historical events in a wide-ranging carnivore, the American puma. *Molecular Ecology* **14:** 1965–1977.

Meagher, S., Penn, D.J. *et al.* (2000) Male-male competition magnifies inbreeding depression in wild house mice. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **97:** 3324–3329.

Merilä, J. and Sheldon, B.C. (2000) Lifetime reproductive success and heritability in nature. *American Naturalist* **155:** 301.

Merilä, J. and Crnokrak, P. (2001) Comparison of genetic differentiation at marker loci and quantitative traits. *Journal of Evolutionary Biology* **14:** 892–903.

Meyers, L.A. and Bull, J.J. (2002) Fighting change with change: adaptive variation in an uncertain world. *Trends in Ecology and Evolution* **17:** 551–557.

Mikko, S. and Andersson, L. (1995) Low major histocompatiblity complex class II diversity in European and North American moose. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **92:** 4259–4263.

Milberg, P. and Tyrberg, T. (1993) Naive birds and noble savages - a review of man-caused prehistoric extinctions of island birds. *Ecography* **16:** 229–250.

Milinski, M. (2006) The major histocompatibility complex, sexual selection, and mate choice. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **37:** 159–186.

Miller, H.C. and Lambert, D.M. (2004) Gene duplication and gene conversion in class II MHC genes of New Zealand robins (Petroicidae). *Immunogenetics* **56:** 178–191.

Miller, K., Withler, R. *et al.* (1997) Molecular evolution at Mhc genes in two populations of chinook salmon *Onchorynchus tshawytscha*. *Molecular Ecology* **6:** 937–954.

Miller, M., Goto, R. *et al.* (1996) Assignment of Rfp-Y to the chicken major histocompatibility complex NOR microchromosome and evidence for high-frequency recombination associated with the nucleolar organizer region. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **93:** 3958–3962.

Miller, M., Bacon, L. *et al.* (2004) Nomenclature for the chicken major histocompatibility (B and Y) complex. *Immunogenetics* **56:** 261–279.

Miller, M.M., Wang, C. *et al.* (2005) Characterization of two avian MHC-like genes reveals an ancient

origin of the CD1 family. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **102:** 8674–8679.

Mills, M.G.L. (2006) Response to article: 'The genetic rescue of the Florida panther' by Pimm *et al.* (2006). *Animal Conservation* **9:** 123–124.

Mishima, K., Tozawa, T. *et al.* (2005) The 3111T/C polymorphism of hClock is associated with evening preference and delayed sleep timing in a Japanese population sample. *American Journal of Medical Genetics Part B Neuropsychiatric Genetics* **133B:** 101–104.

Montalvo, A.M. and Ellstrand, N.C. (2000) Transplantation of the subshrub *Lotus scoparius*: testing the home-site advantage hypothesis. *Conservation Biology* **14:** 1034–1045.

Mooney, H. and Hobbs, R. (eds) (2000) *Invasive Species in a Changing World*. Washington: Island Press.

Mooney, H.A. and Cleland, E.E. (2001) The evolutionary impact of invasive species. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **98:** 5446–5451.

Morin, P.A., Luikart, G. *et al.* (2004) SNPs in ecology, evolution, and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* **19:** 208–216.

Moritz, C. (1994) Defining 'evolutionary significant units' for conservation. *Trends in Ecology and Evolution* **9:** 373–375.

Moritz, C. (1995) Uses of molecular phylogenies for conservation. *Philosophical Transactions of the Royal Society London Series B Biological Sciences* **349:** 113–118.

Moritz, C. (2002) Strategies to protect biological diversity and the evolutionary processes that sustain it. *Systematic Biology* **51:** 238–254.

Morton, N.E., Crow, J.F. *et al.* (1956) An estimate of the mutational damage in man from data on consanguineous marriages. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **42:** 855–863.

Mundy, N. (2006) Genetic basis of color variation in wild birds. In *Bird Coloration*, G. Hill and K. McGraw (eds), pp. 469–505. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Nadeau, N.J., Burke, T. *et al.* (2007a) Evolution of an avian pigmentation gene correlates with a measure of sexual selection. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **274.**

Nadeau, N.J., Mundy, N.I. *et al.* (2007b) Association of a single-nucleotide substitution in TYRP1 with roux in Japanese quail (*Coturnix japonica*). *Animal Genetics* **38:** 609–613.

Nakadate, M., Shikano, T. *et al.* (2003) Inbreeding depression and heterosis in various quantitative traits of the guppy *Poecilia reticulata*. *Aquaculture* **220:** 219–226.

Nei, M. (1975) *Molecular Population Genetics and Evolution*. Amsterdam: North Holland.

Nei, M. (1987) *Molecular Evolutionary Genetics*. New York: Columbia University Press.

Nei, M. and Li, W.H. (1979)

Mathematical model for studying genetic variation in terms of restriction endonucleases. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **76:** 5269–5273.

Nei, M. and Tajima, F. (1981) DNA polymorphism detectable by restriction endonucleases. *Genetics* **97:** 146–163.

Nei, M. and Kumar, S. (2000) *Molecular Evolution and Phylogenetics*. New York: Oxford University Press.

Newman, D. and Pilson, D. (1997) Increased probability of extinction due to decreased genetic effective population size: experimental populations of *Clarkia pulchella*. *Evolution* **51:** 354–362.

Newton, I. (2003) *The Speciation and Biogeography of Birds*. New York: Academic Press.

Nichols, R. (2001) Gene trees and species trees are not the same. *Trends in Ecology and Evolution* **16:** 358–364.

Nielsen, R. (1997) A likelihood approach to populations samples of microsatellite alleles. *Genetics* **146:**

711–716.

Nielsen, R. and Yang, Z. (1998) Likelihood models for detecting positively selected amino acid sites and applications to the HIV-1 envelope gene. *Genetics* **148:** 929–936.

Nowak, M., Tarczy-Hornoch, K. *et al.* (1992) The optimal number of major histocompatibility complex molecules in an individual. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **89:** 10896–10899.

Ober, C. (1999) Studies of HLA, fertility and mate choice in a human isolate. *Human Reproduction Update* **5:** 103–107.

O'Brien, S., Wildt, D. *et al.* (1985) The cheetah is depauperate in genetic variation. *Science* **221:** 459–462.

O'Hara, R.B. and Merilä, J. (2005) Bias and precision in *QST* estimates: problems and some solutions. *Genetics* **171:** 1331–1339.

Ohta, Y., Goetz, W. *et al.* (2006) Ancestral organization of the MHC revealed in the amphibian *Xenopus*. *Journal of Immunology* **176:** 3674–3685.

Oostermeijer, J.G.B., van Eijck, M.W. *et al.* (1994) Offspring fitness in relation to population size and genetic variation in the rare perennial plant species *Gentiana pneumonanthe* (Gentianaceae). *Oecologia* **97:** 289–296.

Oostermeijer, J.G.B., van Eijck, M.W. *et al.* (1995) Analysis of the relationship between allozyme heterozygosity and fitness in the rare *Gentiana pneumonanthe* L. *Journal of Evolutionary Biology* **8:** 739–759.

Oostermeijer, J.G.B., Luijten, S.H. *et al.* (2003) Integrating demographic and genetic approaches in plant conservation. *Biological Conservation* **113:** 389–398.

Orr, H. and Coyne, J. (1992) The genetics of adaptation: a reassessment. *American Naturalist* **140:** 725–742.

Österberg, M.K., Shavorskaya, O. *et al.* (2002) Naturally occurring indel variation in the *Brassica nigra* COL1 gene is associated with variation in flowering time. *Genetics* **161:** 299–306.

Otto, S. (2000) Detecting the form of selection from DNA sequence data. *Trends in Genetics* **16:** 526–529.

Ovaskainen, O., Cano, J.M. *et al.* (2008) A Bayesian framework for comparative quantitative genetics. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **275:** 669–678.

Paetkau, D. (1999) Using genetics to identify intraspecific conservation units: a critique of current methods. *Conservation Biology* **13:** 1507–1509.

Paetkau, D., Calvert, W. *et al.* (1995) Microsatellite analysis of population structure in Canadian polar bears. *Molecular Ecology* **4:** 347–354.

Paetkau, D., Shields, G. *et al.* (1998) Gene flow between insular, coastal and interior populations of brown bears in Alaska. *Molecular Ecology* **7:** 1283–1292.

Pagel, M. and Pomiankowski, A. (2007) The organismal prospect. In *Evolutionary Genomics and Proteomics*, M. Pagel and A. Pomiankowski (eds). Sunderland, MA, Sinauer Associates.

Palm, S., Dannewitz, J. *et al.* (2003a) Lack of molecular genetic divergence between searanched and wild sea trout (*Salmo trutta*). *Molecular Ecology* **12:** 2057–2071.

Palm, S., Laikre, L. *et al.* (2003b) Effective population size and temporal genetic change in stream resident brown trout (*Salmo trutta*, L.). *Conservation Genetics* **4:** 249–264.

Palumbi, S.R. (2001) Humans as the world's greatest evolutionary force. *Science* **293:** 1786–1790.

Pamilo, P. and Nei, M. (1988) Relationships between gene trees and species trees. *Molecular Biology and Evolution* **5:** 568–583.

Panda, S., Hogenesch, J.B. *et al.* (2002) Circadian rhythms from flies to human. *Nature* **417:** 329–335.

Parmesan, C. and Yohe, G. (2003) A globally coherent fingerprint of climate change impacts across natural systems. *Nature* **421:** 37–42.

Pastor, T., Garza, J. *et al.* (2004) Low genetic variability in the highly endangered Mediterranean monk seal. *Journal of Heredity* **95:** 291–300.

Paterson, S., Wilson, K. *et al.* (1998) Major histocompatibility complex variation associated with juvenile survival and parasite resistance in a large unmanaged ungulate population (*Ovis aries* L.). *Evolution* **95:** 3714–3719.

Peakall, R. and Smouse, P.E. (2006) GENALEX 6: genetic analysis in Excel. Population genetic software for teaching and research. *Molecular Ecology Notes* **6:** 288–295.

Peichel, C.L., Ross, J.A. *et al.* (2004) The master sex-determination locus in threespine sticklebacks is on a nascent Y chromosome. *Current Biology* **14:** 1416–1424.

Pemberton, J.M. (2004) Measuring inbreeding depression in the wild: the old ways are the best. *Trends in Ecology and Evolution* **19:** 613–615.

Pemberton, J.M. (2008) Wild pedigrees: the way forward. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **275:** 613–621.

Pemberton, J.M., Coltman, D.W. *et al.* (1999) Using microsatellites to measure the fitness consequences of inbreeding and outbreeding. In *Microsatellites: Evolution and Applications*, D.B. Goldstein and C. Schlötterer (eds), pp. 151–162. Oxford: Oxford University Press.

Penn, D.J. (2002) The scent of genetic compatibility: sexual selection and the major histocompatibility complex. *Ethology* **108:** 1–21.

Penn, D.J. and Potts, W.K. (1998) How do major histocompatibility genes influence odor and mating preferences? *Advances in Immunology* **69:** 411–435.

Penn, D.J. and Potts, W.K. (1999) The evolution of mating preferences and major histocompatibility complex genes. *American Naturalist* **153:** 145–164.

Pertoldi, C., Bijlsma, R. *et al.* (2007) Conservation genetics in a globally changing environment: present problems, paradoxes and future challenges. *Biodiversity and Conservation* **16:** 4147–4163.

Petersson, E. and Järvi, T. (1993) Differences in reproductive traits between sea-ranched and wild seatrout (*Salmo trutta*) originating from a common stock. *Nordic Journal of Freshwater Research* **68:** 91–97.

Petersson, E. and Järvi, T. (1995) Evolution of morphological traits in sea trout (*Salmo trutta*) parr (0+) through sea-ranching. *Nordic Journal of Freshwater Research* **70:** 62–67.

Petersson, E., Järvi, T. *et al.* (1996) The effect of domestication on some life history traits of sea trout and Atlantic salmon. *Journal of Fish Biology* **48:** 776–791.

Petit, C., Fréville, H. *et al.* (2001) Gene flow and local adaptation in two endemic plant species. *Biological Conservation* **100:** 21–34.

Phillips, B., Brown, G. *et al.* (2003) Assessing the potential impact of cane toads on Australian snakes. *Conservation Biology* **17:** 1738–1747.

Phillips, B., Brown, G. *et al.* (2006a) Invasion and the evolution of speed in toads. *Nature* **439:** 803.

Phillips, B. and Shine, R. (2006b) An invasive species induces rapid adaptive change in a native predator: cane toads and black snakes in Australia. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **273:** 1545–1550.

Phillips, B.L. and Shine, R. (2004) Adapting to an invasive species: toxic cane toads induce morphological change in Australian snakes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101:** 17150–17155.

Piertney, S., Maccoll, A. *et al.* (1998) Local genetic structure in red grouse (*Lagopus lagopus scoticus*):

evidence from microsatellite DNA markers. *Molecular Ecology* **7:** 1645–1654.

Piertney, S.B. and Oliver, M.K. (2006) The evolutionary ecology of the major histocompatibility complex. *Heredity* **96:** 7–21.

Piertney, S.B. and Webster, L.M. (2008) Characterising functionally important and ecologically meaningful genetic diversity using a candidate gene approach. *Genetica* (in press).

Pimm, S.L. (1991) *The Balance of Nature?: Ecological Issues in Conservation of Species and Communities*. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Pimm, S.L., Dollar, L. *et al.* (2006a) The genetic rescue of the Florida panther. *Animal Conservation* **9:** 115–122.

Pimm, S.L., Bass, O.L. *et al.* (2006b) Ockham and Garp. reply to Maehr et al's (2006) response to Pimm *et al.* (2006) *Animal Conservation* **9:** 133–134.

Piry, S., Luikart, G. *et al.* (1999) BOTTLENECK: a computer program for detecting recent reductions in the effective population size using allele frequency data. *Journal of Heredity* **90:** 502–503.

Pounds, A.J., Bustamante, M.R. *et al.* (2006) Widespread amphibian extinctions from epidemic disease driven by global warming. *Nature* **439:** 161–167.

Pritchard, J.K., Stephens, M. *et al.* (2000) Inference of population structure using multilocus genotype data. *Genetics* **155:** 945–959.

Quinn, G. and Keough, M. (2002) *Experimental Design and Data Analysis for Biologists*. Cambridge: Cambridge University Press.

Quinn, T. (2001) Evolution of chinook salmon (*Oncorhynchus tshawytscha*) populations in New Zealand: pattern rate, and process. *Genetica* **112–113:** 493–513.

Rannala, B. and Mountain, J. (1997) Detecting immigration by using multilocus genotypes. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **94:** 9197–9201.

Rannala, B. and Z. Yang (2003) Bayes estimation of species divergence times and ancestral population sizes using DNA sequences from multiple loci. *Genetics* **164:** 1645–1656.

Räsänen, K., Laurila, A. *et al.* (2003a) Geographic variation in acid stress tolerance of the moor frog, *Rana arvalis*. I.Local adaptation. *Evolution* **57:** 352–362.

Räsänen, K., A. Laurila, *et al.* (2003b) Geographic variation in acid stress tolerance of the moor frog, *Rana arvalis*. II. Adaptive maternal effects. *Evolution* **57:** 363–371.

Raup, D.M. (1992) *Extinction: Bad Genes or Bad Luck?* London: W.W. Norton.

Raup, D.M. (1994) The role of extinction in evolution. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **91:** 6758–6763.

Reed, D.H. and Bryant, E.H. (2000) Experimental tests of minimum viable population size. *Animal Conservation* **3:** 7–14.

Reed, D.H. and Frankham, R. (2001) Correlation between fitness and genetic diversity. *Conservation Biology* **17:** 230–237.

Reed, D.H., Briscoe, D.A. *et al.* (2002) Inbreeding and extinction: the effect of environmental stress and lineage. *Conservation Genetics* **3:** 301–307.

Reed, D.H., Lowe, E.H. *et al.* (2003) Inbreeding and extinction: effects of rate of inbreeding. *Conservation Genetics* **4:** 405–410.

Reith, W. and Mach, B. (2001) The bare lymphocyte syndrome and the regulation of MHC expression. *Annual Review of Immunology* **19:** 331–373.

Reusch, T., Häberli, M. *et al.* (2001) Female sticklebacks count alleles in a strategy of sexual selection explaining MHC polymorphism. *Nature* **414:** 300–302.

Reznick, D. (1997) Evaluation of the rate of evolution in natural populations of guppies (*Poecilia reticulata*). *Science* **275:** 1934–1937.

Reznick, D. and Travis, J. (1996) The empirical study of adaptation in natural populations. *Adaptation*, M.R. Rose and G.V. Lauder (eds), pp. 243–290. New York: Academic Press.

Reznick, D. and Ghalambor, C. (2001) The population ecology of contemporary adaptations: what empirical studies reveal about the conditions that promote rapid evolution. *Genetica* **112:** 183–198.

Reznick, D., Butler Iv, M.J. *et al.* (2001) Life-history evolution in guppies. VII. The comparative ecology of high- and low-predation environments. *American Naturalist* **157:** 126–140.

Reznick, D.N. and Bryga, H. (1987) Life-history evolution in guppies (*Poecilia reticulata*): 1. Phenotypic and genetic changes in an introduction experiment. *Evolution* **41:** 1370–1385.

Richardson, D.S. and Westerdahl, H. (2003) MHC diversity in two *Acrocephalus* species: the outbred great reed warbler and the inbred Seychelles warbler. *Molecular Ecology* **12:** 3523–3529.

Richman, A.D., Herrera, G. *et al.* (2007) Evidence for balancing selection at the DAB locus in the axolotl, *Ambystoma mexicanum*. *International Journal of Immunogenetics* **34:** 475–478.

Rieseberg, L. and Buerkle, C. (2002) Genetic mapping in hybrid zones. *American Naturalist* **159:** 36–50.

Riley, S., Pollinger, J. *et al.* (2006) A southern California freeway is a physical and social barrier to gene flow in carnivores. *Molecular Ecology* **15:** 1733–1741.

Robinson, J., Waller, M.J. *et al.* (2003) MGT/HLA and IMGT/MHC: sequence databases for the study of the major histocompatibility complex. *Nucleic Acids Research* **31:** 311–314.

Rogell, B. (2005) *Microsatellite Variation in the Natterjack Toad on the Swedish West-coast*. MSc thesis, Uppsala University, Uppsala.

Root, T., Price, J. *et al.* (2003) Fingerprints of global warming on wild animals and plants. *Nature* **421:** 57–60.

Rose, M.R. and Lauder, G.V. (eds) (1996) *Adaptation*. New York: Academic Press.

Rossiter, S.J., Jones, G. *et al.* (2001) Outbreeding increases offspring survival in wild greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **268:** 1055–1061.

Rothermel, B. and Semlitsch, R. (2002) An experimental investigation of landscape resistance of forest versus old-field habitats to emigrating juvenile amphibians. *Conservation Biology* **16:** 1324–1332.

Roux, F., Touzet, P. *et al.* (2006) How to be early flowering: an evolutionary perspective. *Trends in Plant Science* **11:** 375–381.

Rubridge, E., Corbett, P. *et al.* (2001) A molecular analysis of hybridization between native westslope cutthroat trout and introduced rainbow trout in southeastern British Columbia. *Journal of Fish Biology* **59:** 42–54.

Rudd, S. (2003) Expressed sequence tags: alternative or complement to whole genome sequences? *Trends in Plant Science* **8:** 321–329.

Ruijter, J., Baas, A. *et al.* (2002) Statistical evaluation of SAGE libraries: consequences for experimental design. *Physiological Genomics* **29:** 37–44.

Ryder, O. (1986) Species conservation and systematics: the dilemma of subspecies. *Trends in Ecology and Evolution* **1:** 9–10.

Saccheri, I., Kuussaari, M. *et al.* (1998) Inbreeding and extinction in a butterfly metapopulation. *Nature* **392:** 491–494.

Saether, S.A., Fiske, P. *et al.* (2007) Inferring local adaptation from Q_{ST}-F_{ST} comparisons: neutral genetic and quantitative trait variation in European populations of Great Snipe. *Journal of Evolutionary Biology* **20:** 1563–1576.

Sahlsten, J., Thörngren, H. *et al.* (2008) Inference of hazel grouse populations structure using

multilocus data: a landscape genetic approach. *Heredity* (in press).
Sammut, B., Laurens, V. *et al.* (1997) Isolation of MHC class I cDNAs from the axolotl *Ambystoma mexicanum*. *Immunogenetics* **45:** 285–294.
Sammut, B., Du Pasquier, L. *et al.* (1999) Axolotl MHC architecture and polymorphism. *European Journal of Immunology* **29:** 2897–2907.
Scheiner, S.M. (1993) Genetics and evolution of phenotypic plasticity. *Annual Review of Ecology and Systematics* **24:** 35–68.
Schemske, D.W. and Lande, R. (1987) On the evolution of plant mating systems: a reply to Waller. *American Naturalist* **130:** 804–806.
Schierup, M.H. (1998) The number of self-incompatibility alleles in a finite, subdivided population. *Genetics* **149:** 1153–1162.
Schwartz, M., Luikart, G. *et al.* (2006) Genetic monitoring as a promising tool for conservation and management. *Trends in Ecology and Evolution* **22:** 25–33.
Seddon, J. and Baverstock, P. (1999) Variation on islands: major histocombatibility complex (Mhc) polymorphism in population of the Australian bush rat. *Molecular Ecology* **8:** 2071–2079.
Segelbacher, G. and Storch, I. (2002) Capercaillie in the Alps: genetic evidence of metapopulation structure and population decline. *Molecular Ecology* **11:** 1669–1677.
Segelbacher, G. and Höglund, J. (2008) Ecological genomics and conservation – where do we stand? *Genetica* (in press).
Segelbacher, G., Höglund, J. *et al.* (2003) From connectivity to isolation: genetic consequences of population fragmentation in capercaillie across Europe. *Molecular Ecology* **12:** 1773–1780.
Segelbacher, G., Manel, S. *et al.* (2008) Temporal and spatial analyses disclose consequences of habitat fragmentation on the genetic diversity in capercaillie (*Tetrao urogallus*). *Molecular Ecology* **17:** 2356–2367.
Shapiro, M., Marks, M. *et al.* (2004) Genetic and developmental basis of evolutionary pelvic reduction in threespine sticklebacks. *Nature* **428:** 717–723.
Shiina, T., Hosomichi, K. *et al.* (2006) Comparative genomics of the poultry major histocompatibility complex. *Animal Science Journal* **77:** 151–162.
Shindo, C., Aranzana, M.J. *et al.* (2005) Role of FRIGIDA and FLOWERING LOCUS C in determining variation in flowering time of *Arabidopsis*. *Plant Physiology* **138:** 1163–1173.
Simberloff, D. (1998) Flagships, umbrellas, and keystones: is single-species management passe in the landscape era? *Biological Conservation* **83:** 247–257.
Slade, R.W. and McCallum, H.I. (1992) Overdominant vs. frequency-dependent selection at MHC loci. *Genetics* **132:** 861–862.
Slate, J. (2005) Quantitative trait locus mapping in natural populations: progress, caveats and future directions. *Molecular Ecology* **2:** 363–379.
Slate, J. and Pemberton, J.M. (2002) Comparing molecular measures for detecting inbreeding depression. *Journal of Evolutionary Biology* **15:** 20–31.
Slate, J., Kruuk, L.E.B. *et al.* (2000) Inbreeding depression influences lifetime breeding success in a wild population of red deer (*Cervus elaphus*). *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **267:** 1657–1662.
Slate, J., David, P. *et al.* (2004) Understanding the relationship between the inbreeding coeffi cient and multilocus heterozygosity: theoretical expectations and empirical data. *Heredity* **93:** 255–265.
Slate, J., Gratten, J. *et al.* (2008) Gene mapping in the wild with SNPs: guidelines and future directions. *Genetica* (in press).
Slatkin, M. (1985) Gene flow in natural populations. *Annual Review of Ecology and Systematics* **16:**

393–430.

Slatkin, M. and Barton, N.H. (1989) A comparison of three indirect methods for estimating the average level of gene flow. *Evolution* **43:** 1349–1368.

Slotte, T., Holm, K. *et al.* (2007) Differential expression of genes important for adaptation in *Capsella bursa-pastoris* (Brassicaceae). *Plant Physiology* **145:** 160–73.

Smith, T. and Bernatchez, L. (2008) Evolutionary change in human-altered environments. *Molecular Ecology* **17:** 1–8.

Smith, T., Bruford, M. *et al.* (1993) The preservation of process: the missing element of conservation programs. *Biodiversity Letters* **1:** 164–167.

Smith, T.B. and L. Bernatchez (2008) Evolutionary change in human-altered environments. *Molecular Ecology* **17:** 1–8.

Smith, T.B., Wayne, R.K. *et al.* (1997) A role for ecotones in generating rainforest biodiversity. *Science* **276:** 1855–1857.

Söderhäll, K. (2004) Krasslig kräfta, tvivelaktig import. *Miljöforskning*. Stockholm: The Swedish Research Council for Environment, Agricultural Sciences and Spatial Planning.

Sodhi, N., Liow, L. *et al.* (2004) Avian extinction from tropical and subtropical forests. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* **35:** 323–345.

Sommer, S. (2005) The importance of immune gene variability (MHC) in evolutionary ecology and conservation. *Frontiers in Zoology* **2:** 16.

Soulé, M. (1976) Allozyme variation: its determinant in space and time. In *Molecular Evolution*, F.J. Ayala (ed.), pp. 60–76. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Soulé, M.E. (1980) Thresholds for survival: maintaining fitness and evolutionary potential. *Conservation Biology: an Evolutionary-Ecological Perspective*. M.E. Soulé and B.A. Wilcox, pp. 151–169. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Soulé, M.E. (ed.) (1986) *Conservation Biology: the Science of Scarcity and Diversity*. Sunderland, MA: Sinauer Associates.

Soulé, M.E. (1987) *Viable Populations for Conservation*. Cambridge: Cambridge University Press.

Soulé, M.E. and Mills, L.S. (1998) Population genetics: no need to isolate genetics. *Science* **282:** 1658–1659.

Spear, S., Peterson, C. *et al.* (2005) Landscape genetics of the blotched tiger salamander (*Ambystoma tigrinum melanostictum*). *Molecular Ecology* **14:** 2553–2564.

Spear, S., Peterson, C. *et al.* (2006) Molecular evidence for historical and recent population size reductions of tiger salamanders (*Ambystoma tigrinum*) in Yellowstone National Park. *Conservation Genetics* **7:** 605–611.

Spielman, D., Brook, B.W. *et al.* (2004) Most species are not driven to extinction before genetic factors impact them. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101:** 15261–15264.

Spitze, K. (1993) Population structure in *Daphnia obtusa*: quantitative genetic and allozymic variation. *Genetics* **135:** 367–374.

Stearns, S.C. and Koella, J.C. (1986) The evolution of phenotypic plasticity in life-history traits: predictions of reaction norms for age and size at maturity. *Evolution* **40:** 893–913.

Stet, R., Kruiswijk, C. *et al.* (2003) Major histocompatibility lineages and immune gene function in teleost fishes: the road not taken. *CRC Critical Reviews in Immunology* **23:** 441–471.

Stinchcombe, J.R., Weinig, C. *et al.* (2004) A latitudinal cline in flowering time in *Arabidopsis thaliana* modulated by the flowering time gene FRIGIDA. *Proceedings of the National Academy of Sciences USA* **101:** 4712–4717.

Stockwell, C.A., Hendry, A.P. *et al.* (2003) Contemporary evolution meets conservation biology.

Trends in Ecology and Evolution **18:** 294–301.

Storfer, A., Murphy, M. *et al.* (2007) Putting the 'landscape' in landscape genetics. *Heredity* **98:** 128–142.

Storz, J.F. (2002) Contrasting patterns of divergence in quantitative traits and neutral DNA markers: analysis of clinal variation. *Molecular Ecology* **11:** 2537–2551.

Storz, J.F. (2005) Using genomic scans of DNA polymorphism to infer adaptive population divergence. *Molecular Ecology* **14:** 671–688.

Strand, T., Westerdahl, H. *et al.* (2007) The Mhc class II of the Black grouse (*Tetrao tetrix*) consists of low numbers of B and Y genes with variable diversity and expression. *Immunogenetics* **59:** 725–734.

Suzuki, Y. (2004) New methods for detecting positive selection at single amino acid sites. *Journal of Molecular Evolution* **59:** 11–19.

Swaddle, J. and Lockwood, R. (1998) Morphological adaptations to predation risk in passerines. *Journal of Avian Biology* **29:** 172–176.

Szarowska, M., Falniowski, A. *et al.* (1998) Adaptive significance of glucose phosphate isomerase (GPI) allozymes in the spring snail *Bythinella*? *Journal of Molluscan Studies* **64:** 257–261.

Taberlet, P., Swenson, J. *et al.* (1995) Localization of a contact zone between two highly divergent mitochondrial DNA lineages of the brown bear (*Ursus arctos*) in Scandinavia. *Conservation Biology* **9:** 1255–1264.

Tajima, F. (1989) Statistical-method for testing the neutral mutation hypothesis by DNA polymorphism. *Genetics* **123:** 585–595.

Takahata, N. and Nei, M. (1990) Allelic geneology under overdominant and frequency dependent selction and polymorphism of major histocompatibility complex loci. *Genetics* **124:** 967–978.

Taylor, E.B., Stamford, M.D. *et al.* (2003) Population subdivision in westslope cutthroat trout (*Oncorhynchus clarki lewisi*) at the northern periphery of its range: evolutionary inferences and conservation implications. *Molecular Ecology* **12:** 2609–2622.

Thomas, C., Cameron, A. *et al.* (2004) Extinction risk from climate change. *Nature* **427:** 145–148.

Thomas, J., Telfer, M. *et al.* (2004) Comparative losses of british butterflies, birds, and plants and the global extinction crisis. *Science* **303:** 1879–1881.

Thompson, J.N. (1996) Evolutionary ecology and the conservation of biodiversity. *Trends in Ecology and Evolution* **11:** 300–303.

Thompson, K. and Jones, A. (1999) Human population density and prediction of local plant extinction in Britain. *Conservation Biology* **13:** 185–189.

Thörngren, H. (2006) *Genetic Structure in Northern Fringe Populations of the Natterjack Toad, Bufo calamita*. MSc thesis, Uppsala University.

Townsend-Peterson, A., Ortega-Huerta, M. *et al.* (2002) Future projections for Mexican faunas under global climate change scenarios. *Nature* **416:** 626–629.

Travers, S.E., Smith, M.D. *et al.* (2007) Ecological genomics: making the leap from model systems in the lab to native populations in the field. *Frontiers in Ecology and the Environment* **5:** 19–24.

Tregenza, T. and Wedell, N. (2000) Genetic compatibility, mate choice and patterns of parentage. *Molecular Ecology* **9:** 1013–1027.

Tsutsui, N. and Case, T. (2001) Population genetics and colony structure of the Argentine ant (*Linepithema humile*) in its native and introduced ranges. *Evolution* **55:** 976–985.

Ujvari, B., Madsen, T. *et al.* (2002) Low genetic diversity threatens imminent extinction for the Hungarian meadow viper (*Vipera ursinii rakosiensis*). *Biological Conservation* **105:** 127–130.

Urban, M.C., Phillips, B.L. *et al.* (2008) A toad more traveled: the heterogeneous invasion dynamics of

cane toads in Australia. *American Naturalist* **171:** E134–E148.

Våge, D.I., Fuglei, E. *et al.* (2005) Two cysteine substitutions in the MC1R generate the blue variant of the arctic fox (*Alopex lagopus*) and prevent expression of the white winter coat. *Peptides* **26:** 1814–1817.

Van Dongen, S. *et al.* (1997) Genetic population structure of the winter moth (*Operophtera brumata* L.) (Lepidoptera, Geometridae) in a fragmented landscape. *Heredity* **80:** 92–100.

van Noordwijk, A.J. and Scharloo, W. (1981) Inbreeding in an island population of the great tit. *Evolution* **35:** 674–688.

van Oosterhout, C., Joyce, D.A. *et al.* (2006) Balancing selection, random genetic drift, and genetic variation the major histocompatability complex in two wild populations of guppies (*Poecilia reticulata*). *Evolution* **60:** 2562–2574.

van Oosterhout, C., Smith, A. *et al.* (2007) The guppy as a conservation model: implications of parasitism and inbreeding on reintroduction success. *Conservation Biology* **21:** 1573–1583.

van Tienderen, P.H., de Haan, A.A. *et al.* (2002) Biodiversity assessment using markers for ecologically important traits. *Trends in Ecology and Evolution* **17.**

van Tienderen, P.H. and van der Toorn, J. (1991) Genetic differentiation between populations of *Plantago lanceolata*. I. Local adaptation in three contrasting habitats. *Journal of Ecology* **79:** 27–42.

Vasemägi, A. and Primmer, C. (2005) Challenges for identifying functionally important genetic variation: the promise of combining complementary research strategies. *Molecular Ecology* **14:** 3623–3642.

Vekemans, X. and Slatkin, M. (1994) Gene and allelic genealogies at a gametophytic self-incompatibility locus. *Genetics* **137:** 1157–1165.

Vera, J., Wheat, C. *et al.* (2008) Rapid transcriptome characterization for a nonmodel organism using 454 pyrosequencing. *Molecular Ecology* **17:** 1636–1647.

Via, S. and Lande, R. (1985) Genotype-environment interaction and the evolution of phenotypic plasticity. *Evolution* **39:** 505–522.

Vilà, C., Sundqvist, A.-K. *et al.* (2003) Rescue of a severely bottlenecked wolf (*Canis lupus*) population by a single immigrant. *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **270:** 91–97.

Vincek, V., Klein, D. *et al.* (1995) Molecular-cloning of major histocompatibility complex class-II B-gene cDNA from the Bengalese finch *Lonchura striata*. *Immunogenetics* **42:** 262–267.

Vogler, A.P. and DeSalle, R. 1994. Diagnosing units of conservation management. *Conservation Biology* **6:** 170–178.

Vos, P., Hogers, R. *et al.* (1995) AFLP: an new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* **23:** 4407–4414.

Wang, M. and Schreiber, A. (2001) The impact of habitat fragmentation and social structure on the population genetics of roe deer (*Capreolus capreolus* L.) in central Europe. *Heredity* **86:** 703–715.

Wang, Y., Williams, D. *et al.* (2005) Evidence for a recent genetic bottleneck in the endangered Florida Keys silver rice rat (*Oryzomys argentatus*) revealed by microsatellite DNA analyses. *Conservation Genetics* **6:** 575–585.

Waples, R.S. 1991. Pacific salmon, *Oncorhynchus* spp. and the definition of "species" under the endangered species act. *Marine Fisheries Reviews* **53:** 11–22.

Waples, R.S. and Gaggiotti, O.E. (2006) What is a population? An empirical evaluation of some genetic methods for identifying the number of gene pools and their degree of connectivity. *Molecular Ecology* **15:** 1419–1439.

Waples, R.S., Zabel, R.W. *et al.* (2008) Evolutionary responses by native species to major anthropogenic changes to their ecosystems: Pacific salmon in the Columbia River hydropower system. *Molecular Ecology* **17:** 84–96.

Watt, W. and Dean, A. (2000) Molecular-fuctional studies of adaptive genetic variation in procaryotes and eucaryotes. *Annual Reviewsin Genetics* **34:** 593–622.

Watterson, G. (1977) Heterosis or neutrality. *Genetics* **85:** 789–814.

Watterson, G. (1984) Allele frequencies after a bottleneck. *Theoretical Population Biology* **26:** 387–407.

Weber, A., Weber, K. *et al.* (2007) Sampling the *Arabidopsis* transcriptome with massively parallel pyrosequencing. *Plant Physiology* **144:** 32–42.

Weber, D., Stewart, B. *et al.* (2004) Major histocompatibility complex variation at three class II loci in the northern elephant seal. *Molecular Ecology* **13:** 711–718.

Wedekind, C. and Füri, S. (1997) Body odour preferences in men and women: do they aim for specific MHC combinations or simply heterozygosity? *Proceedings of the Royal Society of London Series B Biological Sciences* **264:** 1387–1387.

Weir, B.S. and Cockerham, C. (1984) Estimating *F*-statistics for the analysis of population structure. *Evolution* **38:** 1358–1370.

Westerdahl, H., Wittzell, H. *et al.* (1999) Polymorphism and transcription of Mhc class I genes in a passerine bird, the great reed warbler. *Immunogenetics* **49:** 158–170.

Westerdahl, H., Wittzell, H. *et al.* (2000) Mhc diversity in two passerine birds: no evidence far a minimal essential Mhc. *Immunogenetics* **52:** 92–100.

Westmeier, R.L., Brawn, J.D. *et al.* (1998) Tracking the long-term decline and recovery of an isolated population. *Science* **282:** 1695–1698.

Wheat, C. (2008) Rapidly developing functional genomics in ecological model systems via 454 transcriptome sequencing. *Genetica* (in press).

Whitehead, A. and Crawford, D. (2007) Variation within and among species in gene expression: raw material for evolution. *Molecular Ecology* **15:** 1197–1211.

Wilding, C.S., Butlin, R.K. *et al.* (2001) Differential gene exchange between parapatric morphs of *Littorina saxatilis* detected using AFLP markers. *Journal of Evolutionary Biology* **14:** 611–619.

Willi, Y., Van Buskirk, J. *et al.* (2006) Limits to the adaptive potential of small populations. *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* **37:** 433–458.

Wilson, E.O. (1992) *The Diversity of Life*. Cambridge, MA: Harvard University Press.

Wirth, T. and Bernatchez, L. (2001) Genetic evidence against panmixia in the European eel. *Nature* **409:** 1037–1040.

Withler, R., Beacham, T. *et al.* (1997) Species identification of Pacific salmon by PCR-RFLP of a MHC gene. *North American Journal of Fisheries and Managent* **17:** 929–938.

Wittzell, H., von Schantz, T. *et al.* (1995) Rfp-Y-like sequences assort independently of pheasant Mhc genes. *Immunogenetics* **42:** 68–71.

Wofford, J., Gresswell, R. *et al.* (2005) Influence of barriers to movement on within-watershed genetic variation of coastal cutthroat trout. *Ecological Applications* **15:** 628–637.

Wren, J., Forgacs, E. *et al.* (2000) Repeat polymorphisms within gene regions: phenotypic and evolutionary implications. *American Journal of Human Genetics* **67:** 345–356.

Wright, D., Kerje, S. *et al.* (2008) The genetic architecture of a female sexual ornament. *Evolution* **62:** 86–98.

Wright, S. (1921) Correlation and causation. *Journal of Agricultural Research* **20:** 557–585.

Wright, S. (1922) Coefficients of inbreeding and relationship. *American Naturalist* **56:** 330–338.

Wright, S. (1929) Fisher's theory of dominance. *American Naturalist* **63:** 274–279.

Wright, S. (1931) Evolution in mendelian populations. *Genetics* **16:** 97–159.

Wright, S. (1938) Size of population and breeding structure in relation to evolution. *Science* **87:** 430–431.

Wright, S. (1951) The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* **15:** 323–354.

Wright, S. (1969) *The Theory of Gene Frequencies*. Chicago, IL: University of Chicago Press.

Wu, P., T.-X. Jiang, *et al.* (2004) Molecular shaping of the beak. *Science* **305:** 1465–1466.

Yan, H. and Zhou, W. (2004) Allelic variations in gene expression. *Current Opinion in Oncology* **16:** 39–43.

Yang, Z. and Nielsen, R. (2000) Estimating synonymous and nonsynonymous substitution rates under realistic evolutionary models. *Molecular Biology and Evolution* **17:** 32–43.

Yang, Z., Nielsen, R. *et al.* (2000) Codon substitution models for heterogeneous selection pressures at amino acid sites. *Genetics* **155:** 431–449.

Young, T.P. (1991) Diversity overrated. *Nature* **352:** 10.

Zelano, B. and Edwards, S.V. (2002) An Mhc component to kin recognition and mate choice in birds: predictions, progress, and prospects. *American Naturalist* **160:** S225–S237.

Ziegler, A., Kentenich, H. *et al.* (2005) Female choice and the MHC. *Trends in Immunology* **26:** 496–502.

Zoorob, R., Bernot, A. *et al.* (1993) Chicken major histocompatibility complex class-II B-genes—analysis of interallelic and interlocus sequence variance. *European Journal of Immunology* **23:** 1139–1145.

中 文 索 引

A

B

C

D

F

G

H

J

K

L

M

N

O

Z

学名索引

A

B

C

D

E

F

G

S

T

U

V

W